HK-CRISPR-Nup188-mEGFP

300657

ΓΕΝΙΚΈΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΊΕΣ

Περιγραφή

Η HK-CRISPR-Nup188-mEGFP είναι μια γενετικά τροποποιημένη κυτταρική σειρά Hela Kyoto. Χρησιμοποιεί την τεχνολογία CRISPR/Cas9 για την ενσωμάτωση της mEGFP (μονομερής ενισχυμένη πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη) στον τόπο Nup188. Η Nup188 είναι μια βασική πρωτεΐνη νουκλεοπορίνης που συμμετέχει στο σύμπλοκο του πυρηνικού πόρου, απαραίτητη για τη μεταφορά μορίων μεταξύ του πυρήνα και του κυτταροπλάσματος. Η σήμανση mEGFP επιτρέπει την οπτικοποίηση της Nup188 σε πραγματικό χρόνο, βοηθώντας στη μελέτη της δυναμικής και της λειτουργίας του συμπλόκου του πυρηνικού πόρου.
Αυτή η κυτταρική σειρά είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για ερευνητές που εστιάζουν στη βιολογία της πυρηνικής μεταφοράς και του συμπλόκου των πυρηνικών πόρων. Η φθορίζουσα επισήμανσή της επιτρέπει την παρατήρηση του Nup188 υπό διάφορες συνθήκες, συμπεριλαμβανομένων των φαρμακευτικών θεραπειών και των γενετικών τροποποιήσεων. Οι εφαρμογές περιλαμβάνουν διαλογή υψηλού περιεχομένου, απεικόνιση ζωντανών κυττάρων και άλλες τεχνικές που βασίζονται στον φθορισμό, παρέχοντας πολύτιμες γνώσεις σχετικά με την πυρηνοκυτταροπλασματική μεταφορά και την ακεραιότητα του πυρηνικού φακέλου.

Ιστός	Ενδοτράχηλος
Ασθένεια	Αδενοκαρκίνωμα
Θέση μετάστασης	Δεν ισχύει (παράγωγο HeLa Kyoto· η θέση του πρωτογενούς όγκου είναι ο ενδοτράχηλος)

Εφαρμογές

Βιολογία του συμπλέγματος των πυρηνικών πόρων (NPC)· πυρηνοκυτταροπλασματική μεταφορά· δυναμική και λειτουργία του Nup188· απεικόνιση του πυρηνικού περιβλήματος με φθορισμό σε ζωντανά κύτταρα· διαλογή υψηλής ανάλυσης· μελέτες επικύρωσης της μεθόδου CRISPR knock-in· αξιολόγηση αναστολέων της πυρηνικής μεταφοράς

ΤΑΞΙΝΌΜΗΣΗ

Οργανισμός	Άνθρωπος
Σεξ	Γυναίκα
Ιδιότητες ανάπτυξης	Πιστός
Κατάσταση όσον αφορά τους ΓΤΟ	GMO-S1

Λεπτομέρειες σχετικά με την κατάσταση των ΓΤΟ

GMO-S1: This HeLa Kyoto line contains a CRISPR knock-in of mEGFP at the Nup188 locus, enabling visualization of nuclear pore scaffold dynamics. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Επίπεδο βιοασφάλειας	1

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΆ

Μορφολογία	Επιθηλιακά κύτταρα με ψηφιδωτό σχήμα πέτρας
Τύπος κυττάρου	Επιθηλιακά κύτταρα

ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΤΙΚΆ

Παραπομπή

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP (αριθμός καταλόγου Cytion 300657)

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

Αριθμός φορολογικού μητρώου NCBI	9606
Κελλοσαύρος	Not assigned (HK-CRISPR-Nup188-mEGFP is a CRISPR-modified HeLa Kyoto derivative; parental HeLa Kyoto CVCL_1922)
Καταθέτης	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)

ΈΚΦΡΑΣΗ ΚΑΙ ΕΥΑΙΣΘΗΣΊΑ

Έκφραση πρωτεϊνών

Nup188, ετικέτα mEGFP

ΧΕΙΡΙΣΜΌΣ ΚΑΙ ΚΑΛΛΙΈΡΓΕΙΑ

Θρεπτικό μέσο

DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)

Ατμόσφαιρα επώασης	37°C, 5%CO2, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Συμπληρώματα

Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Αντιδραστήριο αποσύνδεσης	Accutase

Αναπαραγωγή σε υποκαλλιέργεια

Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Απόψυξη και καλλιέργεια

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

ΈΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΌΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΚΡΥΟΣΥΝΤΉΡΗΣΗ

Στειρότητα

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.
Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

Μέσο κατάψυξης	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Συνθήκες αποθήκευσης

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Όροι αποστολής

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

ΔΩΡΗΤΉΣ

Ηλικία δωρητή	30 χρόνια
Εθνικότητα	Αφροαμερικανός

ΝΟΜΙΚΆ ΘΈΜΑΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΆΛΕΙΑ

Μέτρα ασφαλείας

Όταν σχεδιάζετε να αποθηκεύσετε ένα κρυοφιαλίδιο σε υγρό άζωτο για μελλοντική απόψυξη, είναι υποχρεωτικό να τηρείτε αυστηρά μέτρα ασφαλείας. Τα κατάλληλα προστατευτικά γάντια και ο κατάλληλος προστατευτικός ρουχισμός είναι απαραίτητα, ενώ απαιτείται η χρήση μάσκας προσώπου ή γυαλιών ασφαλείας κατά τη μεταφορά κατεψυγμένων δειγμάτων προς ή από τη δεξαμενή υγρού αζώτου. Αυτό γίνεται για να μετριαστεί ο κίνδυνος τραυματισμού από πιθανές εκρήξεις κρυοσωλήνων κατά την απομάκρυνση, οι οποίες μπορεί να οδηγήσουν στην προβολή αιχμηρών θραυσμάτων.

Εγγύηση

Στην Cytion, υποστηρίζουμε την ποιότητα και τη βιωσιμότητα των προϊόντων μας.
Εγγυόμαστε ότι τα κύτταρά μας θα είναι βιώσιμα κατά την έναρξη της καλλιέργειας για 60 ημέρες μετά την αποστολή από τις εγκαταστάσεις μας.
Διαβεβαιώνουμε ότι όλα τα υλικά συμμορφώνονται με τις προδιαγραφές που περιγράφονται στο Πιστοποιητικό Ανάλυσης ή/και στο Φύλλο Προϊόντος
Για πλήρεις λεπτομέρειες, ανατρέξτε στην <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Δήλωση εγγύησης

Ισχύουν συμφωνίες με τρίτους	Yes