HK-CRISPR-Nup188-mEGFP

300657

YLEISTÄ TIETOA

Kuvaus

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP on geneettisesti muunnettu Hela Kyoto -solulinja. Siinä käytetään CRISPR/Cas9-tekniikkaa mEGFP:n (monomeerinen parannettu vihreä fluoresoiva proteiini) integroimiseksi Nup188-paikannukseen. Nup188 on keskeinen nukleoporiiniproteiini, joka osallistuu ydinhuokoskompleksiin, joka on välttämätön molekyylien kuljettamisessa tuman ja sytoplasman välillä. MEGFP-merkintä mahdollistaa Nup188:n reaaliaikaisen visualisoinnin, mikä auttaa ydinhuokoskompleksin dynamiikan ja toiminnan tutkimisessa.
Tämä solulinja on erityisen hyödyllinen tutkijoille, jotka keskittyvät ydinkuljetukseen ja ydinhuokoskompleksin biologiaan. Sen fluoresoiva merkintä mahdollistaa Nup188:n havainnoinnin erilaisissa olosuhteissa, mukaan lukien lääkehoidot ja geneettiset muutokset. Sovelluksia ovat muun muassa korkean sisällön seulonta, elävien solujen kuvantaminen ja muut fluoresenssiin perustuvat tekniikat, jotka tarjoavat arvokasta tietoa nukleosytoplasman kuljetuksesta ja ydinkuoren eheydestä.

Kudos	Endocervix
Sairaus	Adenokarsinooma
Metastaasikohde	Ei sovelleta (HeLa Kyoto -johdannainen; primaarikasvaimen sijainti on kohdunkaulan sisäosa)

Sovellukset

Ydinporokompleksin (NPC) biologia; ydin-sytoplasmakuljetus; Nup188:n dynamiikka ja toiminta; ydinvaipan fluoresenssikuvantaminen elävissä soluissa; high-content-seulonta; CRISPR-knock-in-validointitutkimukset; ydinkuljetuksen estäjien arviointi

LUOKITTELU

Organismi	Ihminen
Sukupuoli	Nainen
Kasvuominaisuudet	Kiinnittynyt
GMO-status	GMO-S1

GMO-statuksen tiedot

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.

Bioturvallisuustaso	1

OMINAISUUDET

Morfologia	Epiteelin kaltaiset solut, joilla on mosaiikkimaisen kiven muotoinen rakenne
Solutyyppi	Epiteelisolut

TUNNISTEET

Lähdeviite

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP (Cytionin luettelonumero 300657)

NCBI-verotunnus	9606

Cellosaurus	Not assigned (HK-CRISPR-Nup188-mEGFP is a CRISPR-modified HeLa Kyoto derivative; parental HeLa Kyoto CVCL_1922)
Tallettaja	Ellenbergin laboratorio (EMBL)

ILMENTYMINEN JA ALTTIUS

Proteiinin ilmentyminen

Nup188, mEGFP-tagi

KÄSITTELY JA VILJELY

Viljelyalusta

DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

Inkubaatioilma	37 °C, 5 %CO2, kostutettu ilmakehä.

Ravintolisät

Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissosiaatioreagenssi	Accutase

Soluviljely

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Sulatus ja viljely

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.

LAADUNVALVONTA JA KRYOSÄILYTYS

Hedelmättömyys

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.
Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

Jäädytysaine	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Säilytysolosuhteet

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Toimitusehdot

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

LAHJOITTAJA

Luovuttajan ikä	30 vuotta
Etnisyys	Afroamerikkalainen

OIKEUDELLISET JA TURVALLISUUSASIAT

Turvallisuusohjeet

Kun suunnitellaan kryoputken säilyttämistä nestemäisessä typessä sulatusta varten, on noudatettava tiukkoja turvatoimenpiteitä. Asianmukaiset suojakäsineet ja -vaatteet ovat välttämättömiä, ja kasvonaamarin tai suojalasien käyttö on välttämätöntä siirrettäessä jäädytettyjä näytteitä nestetyppisäiliöön tai siitä pois. Tällä pyritään pienentämään loukkaantumisriskiä, joka aiheutuu kryoputkien mahdollisista räjähdyksistä, jotka voivat aiheuttaa terävien sirpaleiden sinkoutumisen.

Takuu

Me Cytionilla seisomme tuotteidemme laadun ja elinkelpoisuuden takana.
Takaamme, että solumme ovat elinkelpoisia viljelyn alkaessa 60 päivän ajan sen jälkeen, kun ne on lähetetty laitoksestamme.
Vakuutamme, että kaikki materiaalit ovat analyysitodistuksessa ja/tai tuoteselosteessa kuvattujen eritelmien mukaisia
Lisätietoja on <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Takuulausumassa

Sovelletaan kolmansien osapuolten kanssa tehtyjä sopimuksia	Yes