HK-CRISPR-Nup188-mEGFP

300657

BENDRA INFORMACIJA

Aprašymas

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP yra genetiškai modifikuota Hela Kyoto ląstelių linija. Joje naudojama CRISPR/Cas9 technologija, kad į Nup188 lokusą būtų integruotas mEGFP (monomerinis sustiprintas žaliasis fluorescencinis baltymas). Nup188 yra pagrindinis nukleoporino baltymas, dalyvaujantis branduolio porų komplekse, kuris būtinas molekulių pernešimui tarp branduolio ir citoplazmos. MEGFP žymėjimas leidžia realiuoju laiku vizualizuoti Nup188, o tai padeda tirti branduolio porų komplekso dinamiką ir funkciją.
Ši ląstelių linija ypač naudinga mokslininkams, tyrinėjantiems branduolio pernešimą ir branduolio porų komplekso biologiją. Fluorescencinis žymėjimas leidžia stebėti Nup188 įvairiomis sąlygomis, įskaitant gydymą vaistais ir genetines modifikacijas. Taikomi didelio turinio tyrimai, gyvų ląstelių vaizdavimas ir kiti fluorescencija pagrįsti metodai, suteikiantys vertingų įžvalgų apie nukleocitoplazminį pernešimą ir branduolio apvalkalo vientisumą.

Audinys	Endocervix
Liga	Adenokarcinoma
Metastazių vieta	Netaikoma (HeLa Kyoto atmaina; pirminė naviko lokalizacija – gimdos kaklelio vidinė dalis)

Paraiškos

Branduolio porų komplekso (NPC) biologija; branduolio ir citoplazmos transportas; Nup188 dinamika ir funkcija; branduolio apvalkalo fluorescencinis vaizdavimas gyvose ląstelėse; didelio apimties atranka; CRISPR „knock-in“ metodikos patvirtinimo tyrimai; branduolio transporto inhibitorių vertinimas

KLASIFIKACIJA

Organizmas	Žmogus
Seksas	Moteris
Augimo savybės	Prisijungęs
GMO statusas	GMO-S1

Išsami informacija apie GMO statusą

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.

Biologinio saugumo lygis	1

CHARAKTERISTIKOS

Morfologija	Į epitelį panašios ląstelės su mozaikos formos akmenukais
Ląstelių tipas	Epitelio ląstelės

IDENTIFIKATORIAI

Nuoroda

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP (Cytion katalogo numeris 300657)

NCBI mokesčių identifikavimo kodas	9606

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

Cellosaurus	Not assigned (HK-CRISPR-Nup188-mEGFP is a CRISPR-modified HeLa Kyoto derivative; parental HeLa Kyoto CVCL_1922)
Indėlininkas	Ellenbergo laboratorija (EMBL)

IŠRAIŠKA IR JAUTRUMAS

Baltojų baltymų ekspresija

Nup188, mEGFP žymė

LAIKYMAS IR AUGINIMAS

Maitinamoji terpė

DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO3, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

Inkubacijos aplinka	37 °C, 5 %CO2, drėkintoje atmosferoje.

Maisto papildai

Papildykite terpę 10 % FBS

Disociacijos reagentas	Accutase

Subkultūrinis auginimas

Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Atšildymas ir auginimas

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.

KOKYBĖS KONTROLĖ IR KRIOKONSERVAVIMAS

Sterilumas

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.
Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

Šaldymo terpė	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Laikymo sąlygos

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Pristatymo sąlygos

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

DONORAS

Donoro amžius	30 metų
Etninė priklausomybė	Afroamerikietis

TEISINIAI IR SAUGOS KLAUSIMAI

Saugos priemonės

Planuojant saugoti kriovaistinę skystame azote, kad ateityje ją būtų galima atšildyti, būtina laikytis griežtų saugos priemonių. Būtina mūvėti tinkamas apsaugines pirštines ir drabužius, o perkeliant užšaldytus mėginius į skystojo azoto talpyklą arba iš jos būtina naudoti veido kaukę arba apsauginius akinius. Taip siekiama sumažinti sužeidimų riziką dėl galimo kriokomponentų sprogimo išėmimo metu, kai gali išsiveržti aštrūs fragmentai.

Garantija

" Cytion" garantuoja savo produktų kokybę ir gyvybingumą.
Garantuojame, kad mūsų ląstelės bus gyvybingos kultūrų auginimo pradžioje 60 dienų po išsiuntimo iš mūsų gamyklos.
Užtikriname, kad visos medžiagos atitinka analizės sertifikate ir (arba) gaminio lape aprašytas specifikacijas
Išsamią informaciją rasite mūsų <a href=""/Kas mes esame/garantijos/" hreflang=""x-default"">Garantijos pareiškime

Taikomos susitarimai su trečiosiomis šalimis	Yes