HK-CRISPR-Nup188-mEGFP

300657

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

Опис

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP - це генетично модифікована клітинна лінія Hela Kyoto. Вона використовує технологію CRISPR/Cas9 для інтеграції mEGFP (мономерного розширеного зеленого флуоресцентного білка) в локус Nup188. Nup188 є ключовим білком нуклеопорину, що входить до складу ядерного порового комплексу, необхідного для транспорту молекул між ядром і цитоплазмою. Мічення mEGFP дозволяє візуалізувати Nup188 в реальному часі, що сприяє вивченню динаміки та функції ядерного порового комплексу.
Ця клітинна лінія є особливо корисною для дослідників, які займаються вивченням ядерного транспорту та біології ядерного порового комплексу. Її флуоресцентне мічення дозволяє спостерігати за Nup188 за різних умов, включаючи медикаментозне лікування та генетичні модифікації. Застосування включає скринінг високого вмісту, візуалізацію живих клітин та інші флуоресцентні методи, що дають цінну інформацію про нуклеоцитоплазматичний транспорт і цілісність ядерної оболонки.

Тканина	Ендоцервікс
Хвороба	Аденокарцинома
Місце метастазування	Не застосовується (похідна лінії HeLa Kyoto; первинне вогнище пухлини — ендоцервікс)

Застосування

Біологія ядерно-порового комплексу (NPC); ядерно-цитоплазматичний транспорт; динаміка та функція Nup188; флуоресцентна візуалізація ядерної оболонки в живих клітинах; скринінг з високою інформаційною насиченістю; дослідження з валідації нокауту за допомогою CRISPR; оцінка інгібіторів ядерного транспорту

КЛАСИФІКАЦІЯ

Організм	Людина
Секс	Жінка
Характеристики росту	Прихильник
Статус ГМО	GMO-S1

Детальна інформація щодо статусу ГМО

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.

Рівень біобезпеки	1

ХАРАКТЕРИСТИКИ

Морфологія	Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю
Тип клітини	Епітеліальні клітини

ІДЕНТИФІКАТОРИ

Посилання

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP (номер за каталогом 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

Ідентифікаційний номер платника податків NCBI	9606
Целозавр	Not assigned (HK-CRISPR-Nup188-mEGFP is a CRISPR-modified HeLa Kyoto derivative; parental HeLa Kyoto CVCL_1922)
Вкладник	Лабораторія Елленберга (EMBL)

ЕКСПРЕСІЯ ТА СПРИЙНЯТЛИВІСТЬ

Експресія білків

Nup188, mEGFP-тег

ОБРОБКА ТА ВИРОЩУВАННЯ

Живильне середовище

ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO3, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)

Атмосфера інкубації	37°C, 5% CO2, волога атмосфера.

Добавки

Додайте до середовища 10% FBS

Реагент для дисоціації	Аккутаза

Пересадка в нове середовище

Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Розморожування та культивування

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.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ТА КРІОКОНСЕРВАЦІЯ

Стерильність

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

Середовище для заморожування	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Умови зберігання

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Умови доставки

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

ДОНОР

Вік донора	30 років
Етнічна приналежність	Афроамериканець

ПРАВОВІ ПИТАННЯ ТА БЕЗПЕКА

Заходи безпеки

Плануючи зберігати кріовіал у рідкому азоті для подальшого розморожування, обов'язково слід дотримуватися суворих заходів безпеки. Під час перенесення заморожених зразків до резервуара з рідким азотом або з нього необхідно використовувати захисні рукавички та одяг, а також маску або захисні окуляри. Це необхідно для того, щоб зменшити ризик травмування від потенційних кріогенних вибухів при вилученні, які можуть призвести до розльоту гострих осколків.

Гарантія

У Cytion ми відповідаємо за якість та життєздатність нашої продукції.
Ми гарантуємо, що наші клітини будуть життєздатними на початку культивування протягом 60 днів після відвантаження з нашого заводу.
Ми запевняємо, що всі матеріали відповідають специфікаціям, описаним у сертифікаті аналізу та/або паспорті продукту
Для отримання більш детальної інформації, будь ласка, зверніться до нашого Заяви про гарантію

Діють угоди з третіми сторонами	Yes