HK-CRISPR-Tpr-mEGFP

300662

GENEL BILGILER

Açıklama

HK-CRISPR-Tpr-mEGFP hücre hattı, özellikle genom düzenleme ve gen ifadesi çalışmalarında ileri genetik araştırmalar için geliştirilmiş özel bir modeldir. HeLa Kyoto hücrelerinden türetilen bu model, hassas genomik modifikasyonlar için CRISPR/Cas9 teknolojisini entegre etmektedir. MEGFP (monomerik Geliştirilmiş Yeşil Floresan Protein) raportör geninin dahil edilmesi, hücresel süreçlerin gerçek zamanlı görselleştirilmesini ve izlenmesini kolaylaştırarak canlı hücrelerde gen fonksiyonu, protein lokalizasyonu ve dinamik hücresel olayları incelemek için sağlam bir araç haline getirir.
Bu hücre hattı özellikle nefroloji araştırmaları, ilaç keşfi ve toksikoloji çalışmaları için kullanışlıdır. Nükleer gözenek kompleksinin bir bileşeni olan Tpr geninin ifadesi, nükleer taşıma mekanizmalarının ve hücresel bölümlendirmenin anlaşılmasına yardımcı olur. Araştırmacılar HK-CRISPR-Tpr-mEGFP hücrelerini nükleer gözenek proteinlerinin çeşitli hücresel yollardaki rollerini keşfetmek için kullanarak kanser, viral enfeksiyonlar ve genetik bozukluklarla ilgili içgörülere katkıda bulunurlar.

Doku	Endoserviks
Hastalık	Adenokarsinom

SINIFLANDIRMA

Canlı	İnsan
Cinsiyet	Kadın
Büyüme özellikleri	Bağlı
GDO durumu	GMO-S1

GDO durumuna ilişkin ayrıntılar

GMO-S1: This HeLa Kyoto line contains an mEGFP-tagged Tpr generated via CRISPR, enabling studies of nuclear basket architecture. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Biyogüvenlik seviyesi	1

ÖZELLIKLER

Morfoloji	Mozaik taş şekilli epitel benzeri hücreler

TANIMLAYICILAR

Kaynak gösterimi

HK-CRISPR-Tpr-mEGFP (Cytion katalog numarası 300662)

NCBI Vergi Kimlik Numarası	9606
Mevduat sahibi	Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)

İFADE VE DUYARLILIK

Protein ekspresyonu

Tpr, mEGFP etiketi

İŞLEME VE YETIŞTIRME

Besiyeri

DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)

Kuluçka ortamı	37°C, %5CO2, nemlendirilmiş atmosfer.

Takviyeler

Ortamı %10 FBS ile takviye edin

Ayrıştırma reaktifi	Accutase

Alt kültür oluşturma

Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

Çözme ve kültürleme

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.

KALITE KONTROL VE KRIYOPREZERVASYON

Kısırlık

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır. Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

Dondurma ortamı	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Saklama koşulları

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Nakliye koşulları

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

BAĞIŞÇI

Bağışçının yaşı	30 yıl
Etnik köken	Afro-Amerikan

YASAL VE GÜVENLIK

Güvenlik önlemleri

İleride çözdürmek üzere sıvı nitrojen içinde bir kriyoviyal saklamayı planlarken, sıkı güvenlik önlemlerine uymak zorunludur. Uygun koruyucu eldivenler ve giysiler şarttır ve dondurulmuş numunelerin sıvı nitrojen tankına veya tanktan transferi sırasında yüz maskesi veya koruyucu gözlük kullanılması gerekir. Bu, çıkarma sırasında keskin parçaların fırlamasına neden olabilecek potansiyel kriyoviyal patlamalardan kaynaklanan yaralanma riskini azaltmak içindir.

Garanti

Cytion olarak ürünlerimizin kalitesinin ve canlılığının arkasındayız.
Hücrelerimizin, tesislerimizden sevkiyattan sonra 60 gün boyunca kültürün başlangıcında canlı olacağını garanti ediyoruz.
Tüm malzemelerin Analiz Sertifikası ve/veya Ürün Sayfasında açıklanan özelliklere uygun olduğunu garanti ediyoruz
Tüm ayrıntılar için lütfen <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garanti Beyanımıza bakın

Üçüncü taraf sözleşmeleri geçerlidir	Yes