HK-CRISPR-mEGFP-Nup358

301575

GENERELLE OPLYSNINGER

Beskrivelse

HK-CRISPR-mEGFP-Nup358-cellelinjen er et genetisk manipuleret derivat af HeLa Kyoto-celler, der er kendt for deres robusthed og udbredte brug i videnskabelig forskning. Denne cellelinje er blevet modificeret ved hjælp af CRISPR-Cas9-teknologi til at udtrykke mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) mærket Nup358, en afgørende komponent i kerneporekomplekset (NPC). Nup358, også kendt som RanBP2, spiller en vigtig rolle i nukleocytoplasmatisk transport, mitotisk spindelsamling og andre cellulære processer. MEGFP-mærket gør det muligt at visualisere Nup358 og dermed observere dens dynamik og interaktioner i cellen i realtid.
HeLa Kyoto-celler, en underlinje af de oprindelige HeLa-celler, er kendetegnet ved deres tilpasningsevne og stabile vækst i kultur. CRISPR-Cas9-systemet i denne cellelinje muliggør præcis genomisk redigering og sikrer, at mEGFP-tagget er præcist fusioneret til Nup358-proteinet uden at forstyrre dets funktion. Det gør HK-CRISPR-mEGFP-Nup358-cellelinjen til et værdifuldt værktøj til at studere de strukturelle og funktionelle aspekter af kerneporekomplekset. Forskere kan bruge denne cellelinje til at få indsigt i de mekanismer, der styrer nukleocytoplasmatisk transport, og Nup358's rolle i cellulær homeostase og sygdomstilstande, såsom kræft og virusinfektioner.

Væv	Endocervix
Sygdom	Adenokarcinom

KLASSIFICERING

Organisme	Menneske
Køn	Kvinde
Vækstegenskaber	Tilhænger
GMO-status	GMO-S1

Oplysninger om GMO-status

GMO-S1: This HeLa Kyoto line contains a CRISPR-integrated mEGFP tag at the RanBP2/Nup358 locus, enabling visualization of cytoplasmic filaments of the nuclear pore. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Biosikkerhedsniveau	1

EGENSKABER

Morfologi	Epithel-lignende celler med mosaikstenform

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 (Cytion katalognummer 301575)

NCBI-skattenummer	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FS
Indskyder	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

UDTRYK OG MODTAGELIGHED

Produkter

EGFP (forstærket grønt fluorescerende protein)

HÅNDTERING OG OPDRÆT

Næringsmedium

DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Inkubationsatmosfære	37°C, 5%CO2, befugtet atmosfære.

Kosttilskud

Suppler mediet med 10% FBS

Dissociationsreagens	Accutase

Oddyrkning

Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Væskeudskiftning	2 til 3 gange om ugen

Optøning og dyrkning

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.

KVALITETSKONTROL OG KRYOPRÆSERVERING

Sterilitet

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

Frysemedium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Opbevaringsbetingelser

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Leveringsbetingelser

Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

DONOR

Donorens alder	30 år
Etnisk tilhørsforhold	Afroamerikaner

JURIDISKE FORHOLD OG SIKKERHED

Sikkerhedsforanstaltninger

Når man planlægger at opbevare et kryovæske i flydende nitrogen med henblik på fremtidig optøning, er det obligatorisk at overholde strenge sikkerhedsforanstaltninger. Passende beskyttelseshandsker og -tøj er afgørende, og der skal bruges ansigtsmaske eller sikkerhedsbriller under overførslen af frosne prøver til eller fra tanken med flydende nitrogen. Dette er for at mindske risikoen for skader fra potentielle kryovæskeeksplosioner ved fjernelse, som kan resultere i projektion af skarpe fragmenter.

Garanti

Hos Cytion står vi inde for vores produkters kvalitet og levedygtighed.
Vi garanterer, at vores celler vil være levedygtige ved kulturens start i 60 dage efter afsendelse fra vores faciliteter.
Vi sikrer, at alle materialer er i overensstemmelse med de specifikationer, der er beskrevet i analysecertifikatet og/eller produktarket
For alle detaljer henvises til vores <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Der gælder aftaler med tredjeparter	Yes