HK-CRISPR-mEGFP-Nup358

301575

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

Опис

Клітинна лінія HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 є генно-інженерним похідним клітин HeLa Kyoto, відомих своєю стійкістю та широким використанням у наукових дослідженнях. Цю клітинну лінію було модифіковано за допомогою технології CRISPR-Cas9 для експресії mEGFP (мономерного розширеного зеленого флуоресцентного білка), міченого Nup358, критично важливого компонента ядерного порового комплексу (NPC). Nup358, також відомий як RanBP2, відіграє важливу роль у нуклеоцитоплазматичному транспорті, складанні мітотичного веретена та інших клітинних процесах. Мітка mEGFP дозволяє візуалізувати Nup358, полегшуючи спостереження за його динамікою та взаємодією в клітині в режимі реального часу.
Клітини HeLa Kyoto, сублінія оригінальних клітин HeLa, характеризуються адаптивністю та стабільним ростом у культурі. Система CRISPR-Cas9 в цій клітинній лінії дозволяє проводити точне геномне редагування, забезпечуючи точне злиття мітки mEGFP з білком Nup358, не порушуючи його функції. Це робить клітинну лінію HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 цінним інструментом для вивчення структурних і функціональних аспектів ядерного порового комплексу. Дослідники можуть використовувати цю клітинну лінію для вивчення механізмів нуклеоцитоплазматичного транспорту та ролі Nup358 у клітинному гомеостазі та захворюваннях, таких як рак та вірусні інфекції.

Тканина	Ендоцервікс
Хвороба	Аденокарцинома

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-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.

Рівень біобезпеки	1

ХАРАКТЕРИСТИКИ

Морфологія	Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю

ІДЕНТИФІКАТОРИ

Посилання

HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 (номер за каталогом Cytion 301575)

Ідентифікаційний номер платника податків NCBI	9606
Целозавр	CVCL_B7FS
Вкладник	Лабораторія Елленберга (EMBL)

ЕКСПРЕСІЯ ТА СПРИЙНЯТЛИВІСТЬ

Продукція

EGFP (розширений зелений флуоресцентний білок)

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.

Оновлення рідини	2-3 рази на тиждень

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