

Клетки НК-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Обща информация

Description

Клетъчната линия НК-CRISPR-NUP205-mEGFP е генетично модифицирана човешка клетъчна линия, предназначена за изследване на нуклеопорин 205 (NUP205) и неговата роля в комплекса на ядрената пора. Модифицирана с CRISPR-Cas9, за да маркира NUP205 с мономерен подобрен зелен флуоресцентен протеин (mEGFP), тя позволява визуализиране и проследяване на NUP205 в живи клетки, подпомагайки изследванията на механизмите на ядрения транспорт и динамиката на комплекса на ядрената пора.

NUP205 е критичен компонент на комплекса на ядрената пора, който регулира преноса на молекули между ядрото и цитоплазмата. Маркирането на NUP205 с mEGFP позволява на изследователите да наблюдават локализацията и поведението му в реално време под флуоресцентен микроскоп, което прави тази клетъчна линия особено полезна за изследване на структурните и функционалните аспекти на комплексите с ядрени пори и ролята им в генната експресия, обработката на РНК и клетъчния цикъл.

Клетъчната линия НК-CRISPR-NUP205-mEGFP е мощен инструмент за изследване на механизмите на нуклеоцитоплазмения транспорт и ролята на ядрения порен комплекс в клетъчната хомеостаза. Тя е ценна и за изследване на начина, по който нарушенията във функцията на ядрената пора допринасят за заболявания като рак и невродегенеративни разстройства, като предлага надежден модел за подобряване на разбирането ни за ядрения транспорт и неговото значение за човешкото здраве.

Organism

Човек

Tissue

Ендоцервикс

Disease

Аденокарцином

Metastatic site

Място на първичния тумор (ендоцервикс)

Applications

Биология на скелетната структура на ядрения порен комплекс (NPC); визуализация на нуклеопорините от скелетната структура на NUP205; визуализация на живи клетки с mEGFP; микроскопия със свръхвисока разделителна способност; валидиране на CRISPR-нокаут; ядрено-цитоплазмен транспорт; структурна организация на NPC

Synonyms

НК-CRISPR-NUP205-mEGFP #81

Характеристики

Age

30 години

Gender

Жена

Ethnicity

Афроамериканец

Клетки НК-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574**Morphology** Епителиални клетки с форма на мозаечно камъче**Cell type** Епителни клетки**Growth properties** Придържачи се**Регулаторни данни****Citation** НК-CRISPR-NUP205-mEGFP (каталожен номер 301574 на Cytion)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR49**Depositor** Лабораторията на Елнбърг (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Тази линия HeLa Kyoto съдържа синтез на mEGFP, разработен с CRISPR, в локуса NUP205 за изследване на ядрената пора на ниво скелет. Тази класификация се прилага само на територията на Германия и може да се различава на други места.**Биомолекулярни данни****Products** EGFP (подобрен зелен флуоресцентен протеин)**Работа с****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Клетки НК-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Subculturing

Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Fluid renewal

2 до 3 пъти седмично

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки НК-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки НК-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.