

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-celler | 301574

Generel information

Description

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-cellelinjen er en genetisk manipuleret human cellelinje, der er designet til at studere nucleoporin 205 (NUP205) og dets rolle i kerneporekomplekset. Den er modificeret med CRISPR-Cas9 til at mærke NUP205 med monomert forstærket grønt fluorescerende protein (mEGFP), hvilket muliggør visualisering og sporing af NUP205 i levende celler og hjælper med forskning i nukleare transportmekanismer og nukleare porekompleksers dynamik.

NUP205 er en kritisk komponent i kerneporekomplekset, der regulerer molekyltransporten mellem kernen og cytoplasmaet. Ved at mærke NUP205 med mEGFP kan forskere observere dens lokalisering og adfærd i realtid under et fluorescensmikroskop, hvilket gør denne cellelinje særligt nyttig til at studere kerneporekompleksers strukturelle og funktionelle aspekter og deres roller i genekspression, RNA-behandling og celleyklus.

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-cellelinjen er et stærkt værktøj til at undersøge nukleocytoplasmatiske transportmekanismer og kerneporekompleksets rolle i den cellulære homeostase. Den er også værdifuld til at udforske, hvordan forstyrrelser i kerneporens funktion bidrager til sygdomme som kræft og neurodegenerative lidelser, hvilket giver en robust model til at fremme vores forståelse af nuklear transport og dens konsekvenser for menneskers sundhed.

Organism Menneske

Tissue Endocervix

Disease Adenokarcinom

Metastatic site Primærtumorens placering (endocervix)

Applications Biologi vedrørende nukleoporekompleksets (NPC) skelet; billeddannelse af nukleoporinet NUP205 i skeletet; visualisering af mEGFP i levende celler; superopløsningsmikroskopi; validering af CRISPR-knock-in; transport mellem cellekerne og cytoplasma; NPC's strukturelle opbygning

Synonyms HK-CRISPR-NUP205-mEGFP #81

Karakteristika

Age 30 år

Gender Kvinde

Ethnicity Afroamerikaner

Morphology Epitel-lignende celler med mosaikstenform

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-celler | 301574

Cell type Epitheliale celler**Growth properties** Vedhæftende**Regulatoriske data****Citation** HK-CRISPR-NUP205-mEGFP (Cytion katalognummer 301574)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR49**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linje indeholder en CRISPR-konstrueret mEGFP-fusion ved NUP205-locus til forskning i nukleare porer på stilladsniveau. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Products** EGFP (forstærket grønt fluorescerende protein)**Håndtering****Culture Medium** 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)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** 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 løse dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-celler | 301574**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.**Thawing and Culturing Cells**

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør celled suspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.**Flask Coating** Ingen

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-celler | 301574

Freezing Procedure

Kryopræservede 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.

Shipping Conditions

Kryopræservede 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.

Storage Conditions

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.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

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 cellekulturene daglige visuelle inspektioner.