

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP-celler | 300657

Generel information

Description

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP er en genetisk modificeret HeLa Kyoto-cellelinje. Den bruger CRISPR/Cas9-teknologi til at integrere mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) i Nup188-locus. Nup188 er et vigtigt nukleoporeinprotein, der er involveret i kerneporekomplekset, som er afgørende for molekyltransporten mellem kernen og cytoplasmaet. MEGFP-mærkningen giver mulighed for realtidsvisualisering af Nup188, hvilket hjælper med at studere kerneporekompleksets dynamik og funktion.

Denne cellelinje er særlig nyttig for forskere, der fokuserer på nuklear transport og nuklear porekompleksbiologi. Dens fluorescerende mærkning gør det muligt at observere Nup188 under forskellige forhold, herunder lægemiddelbehandlinger og genetiske modifikationer. Anvendelserne omfatter screening med højt indhold, billeddannelse af levende celler og andre fluorescensbaserede teknikker, der giver værdifuld indsigt i nukleocytoplasmatisk transport og nuklear kuvertintegritet.

Organism

Menneske

Tissue

Endocervix

Disease

Adenokarcinom

Metastatic site

Ikke relevant (HeLa Kyoto-derivat; primærtumorens placering er endocervix)

Applications

Biologi vedrørende kerneporekomplekset (NPC); transport mellem kerne og cytoplasma; Nup188's dynamik og funktion; fluorescensbilleddannelse af kernemembranen i levende celler; high-content-screening; valideringsundersøgelser af CRISPR-knock-in; evaluering af hæmmere af kernetransport

Karakteristika

Age

30 år

Gender

Kvinde

Ethnicity

Afroamerikaner

Morphology

Epithel-lignende celler med mosaikstenform

Cell type

Epitheliale celler

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP-celler | 300657

Citation	HK-CRISPR-Nup188-mEGFP (Cytion katalognummer 300657)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Ikke tildelt (HK-CRISPR-Nup188-mEGFP er en CRISPR-modificeret HeLa Kyoto-afart; forælderlinjen er HeLa Kyoto CVCL_1922)
Depositor	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linje indeholder en CRISPR-knock-in af mEGFP ved Nup188-locus, hvilket muliggør visualisering af kerneporestilladsets dynamik. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Protein expression	Nup188, mEGFP-tag
---------------------------	-------------------

Håndtering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , 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 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.
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 osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP-celler | 300657**Thawing and
Culturing Cells**

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tør is for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °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 °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 cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x 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°C, 5% CO_2 , befugt atmosfære.

Flask Coating

Ingen

**Freezing
Procedure**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is 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 tør is 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.

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP-celler | 300657

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 og molekylær analyse

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 cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.