

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-Zellen | 301574

Allgemeine Informationen

Description

Die HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-Zelllinie ist eine gentechnisch veränderte menschliche Zelllinie, die zur Untersuchung von Nukleoporin 205 (NUP205) und seiner Rolle im Kernporenkomplex entwickelt wurde. Sie wurde mit CRISPR-Cas9 modifiziert, um NUP205 mit monomerem grün fluoreszierendem Protein (mEGFP) zu markieren. Dies ermöglicht die Visualisierung und Verfolgung von NUP205 in lebenden Zellen und unterstützt die Erforschung von Kerntransportmechanismen und der Dynamik des Kernporenkomplexes.

NUP205 ist eine wichtige Komponente des Kernporenkomplexes, die den Transport von Molekülen zwischen dem Zellkern und dem Zytoplasma reguliert. Die Markierung von NUP205 mit mEGFP ermöglicht es den Forschern, seine Lokalisierung und sein Verhalten in Echtzeit unter einem Fluoreszenzmikroskop zu beobachten, was diese Zelllinie besonders nützlich für die Untersuchung der strukturellen und funktionellen Aspekte von Kernporenkomplexen und ihrer Rolle bei der Genexpression, der RNA-Verarbeitung und dem Zellzyklus macht.

Die HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-Zelllinie ist ein leistungsfähiges Instrument zur Untersuchung von nukleozytoplasmatischen Transportmechanismen und der Rolle des Kernporenkomplexes in der zellulären Homöostase. Sie ist auch wertvoll, um zu erforschen, wie Störungen der Kernporenfunktion zu Krankheiten wie Krebs und neurodegenerativen Störungen beitragen, und bietet ein robustes Modell, um unser Verständnis des Kerntransports und seiner Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit zu verbessern.

Organism Menschen

Tissue Endozervix

Disease Adenokarzinom

Metastatic site Primäre Tumorlokalisierung (Endozervix)

Applications Biologie des Gerüsts des Kernporenkomplexes (NPC); Bildgebung des NUP205-Gerüst-Nukleoporins; mEGFP-Live-Zell-Visualisierung; Superauflösungsmikroskopie; Validierung von CRISPR-Knock-in; nukleozytoplasmatischer Transport; strukturelle Organisation des NPC

Synonyms HK-CRISPR-NUP205-mEGFP #81

Merkmale

Age 30 Jahre

Gender Weiblich

Ethnicity Afroamerikaner

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-Zellen | 301574

Morphology Epithelähnliche Zellen mit mosaikartiger Steinform

Cell type Epithelzellen

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

Citation HK-CRISPR-NUP205-mEGFP (Cytion-Katalognummer 301574)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_UR49

Depositor Das Ellenberg-Labor (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Diese HeLa-Kyoto-Linie enthält eine CRISPR-manipulierte mEGFP-Fusion am NUP205-Lokus für die Kernporenforschung auf Gerüstniveau. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Products EGFP (Enhanced Green Fluorescent Protein)

Handhabung

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-Zellen | 301574

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhärennten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Split ratio Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärennten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-Zellen | 301574

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating Keine

Freezing Procedure Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.