Product sheet

Κύτταρα HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά HK-CRISPR-NUP205-mEGFP είναι μια γενετικά τροποποιημένη ανθρώπινη κυτταρική σειρά που έχει σχεδιαστεί για τη μελέτη της νουκλεοπορίνης 205 (NUP205) και του ρόλου της στο σύμπλεγμα του πυρηνικού πόρου. Τροποποιημένη με CRISPR-Cas9 για την επισήμανση της NUP205 με μονομερή ενισχυμένη πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (mEGFP), επιτρέπει την οπτικοποίηση και την παρακολούθηση της NUP205 σε ζωντανά κύτταρα, βοηθώντας την έρευνα σχετικά με τους μηχανισμούς πυρηνικής μεταφοράς και τη δυναμική του συμπλόκου του πυρηνικού πόρου. Το NUP205 είναι ένα κρίσιμο συστατικό του συμπλέγματος πυρηνικών πόρων, που ρυθμίζει τη μεταφορά μορίων μεταξύ του πυρήνα και του κυτταροπλάσματος. Η επισήμανση του NUP205 με mEGFP επιτρέπει στους ερευνητές να παρατηρούν τον εντοπισμό και τη συμπεριφορά του σε πραγματικό χρόνο σε μικροσκόπιο φθορισμού, καθιστώντας αυτή την κυτταρική σειρά ιδιαίτερα χρήσιμη για τη μελέτη των δομικών και λειτουργικών πτυχών των συμπλόκων πυρηνικών πόρων και των ρόλων τους στην έκφραση γονιδίων, την επεξεργασία RNA και τον κυτταρικό κύκλο. Η κυτταρική σειρά HK-CRISPR-NUP205-mEGFP είναι ένα ισχυρό εργαλείο για τη διερεύνηση των μηχανισμών νουκλεοκυτταροπλασματικής μεταφοράς και του ρόλου του συμπλόκου των πυρηνικών πόρων στην κυτταρική ομοιόσταση. Είναι επίσης πολύτιμη για τη διερεύνηση του τρόπου με τον οποίο οι διαταραχές στη λειτουργία του πυρηνικού πόρου συμβάλλουν σε ασθένειες όπως ο καρκίνος και οι νευροεκφυλιστικές διαταραχές, προσφέροντας ένα ισχυρό μοντέλο για την προώθηση της κατανόησης της πυρηνικής μεταφοράς και των επιπτώσεών της στην ανθρώπινη υγεία.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Ενδοτράχηλος
Disease	Αδενοκαρκίνωμα
Metastatic site	Θέση πρωτογενούς όγκου (ενδοτράχηλος)
Applications	Βιολογία του σκελετού του συμπλέγματος των πυρηνικών πόρων (NPC)· απεικόνιση της νουκλεοπορίνης του σκελετού NUP205· απεικόνιση ζωντανών κυττάρων με mEGFP· μικροσκοπία υπερ-ανάλυσης· επικύρωση της μεθόδου knock-in με CRISPR· πυρηνοκυτταροπλασματική μεταφορά· δομική οργάνωση του NPC
Synonyms	HK-CRISPR-NUP205-mEGFP #81

Χαρακτηριστικά

Age	30 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Αφροαμερικανός

Κύτταρα HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Morphology	Επιθηλιακά κύτταρα με ψηφιδωτό σχήμα πέτρας
Cell type	Επιθηλιακά κύτταρα
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HK-CRISPR-NUP205-mEGFP (αριθμός καταλόγου Cytion 301574)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_UR49
Depositor	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η γραμμή HeLa Kyoto περιέχει μια CRISPR-μηχανική σύντηξη mEGFP στον τόπο NUP205 για την έρευνα των πυρηνικών πόρων σε επίπεδο σκαλωσιάς. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

Βιομοριακά δεδομένα

Products	EGFP (ενισχυμένη πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη)

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Κύτταρα HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.
Thawing and Culturing Cells	1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά. 2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια. 3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου. 4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα. 5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά. 6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης. 7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων. 8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Κύτταρα HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Flask Coating	Κανένα
Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.