

Células HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655**Información general****Description**

La línea celular HK-CRISPR-Nup93-mEGFP se deriva de las células Hela Kyoto y se ha diseñado utilizando la tecnología CRISPR/Cas9 para expresar Nup93 fusionada con la proteína verde fluorescente monomérica mejorada (mEGFP). Esto permite la visualización en tiempo real de Nup93 dentro de la envoltura nuclear, ayudando en el estudio del transporte nuclear-citoplasmático, el ensamblaje del complejo de poros nucleares y la integridad de la envoltura nuclear.

Nup93 es crucial para mantener la arquitectura y la función del complejo de poros nucleares. La etiqueta mEGFP permite seguir su dinámica e interacciones, facilitando técnicas de imagen de alta resolución como la microscopía confocal. Esta línea celular ayuda a los investigadores a comprender la regulación génica, el tráfico nucleocitoplasmático y las respuestas celulares al estrés.

La línea celular HK-CRISPR-Nup93-mEGFP es un valioso recurso para estudiar la biología celular y las enfermedades asociadas al complejo de poros nucleares, contribuyendo a posibles estrategias terapéuticas dirigidas a las vías de transporte nuclear. Es particularmente útil para explorar el papel de la envoltura nuclear en la función celular y la patología.

Organism

Humano

Tissue

Endocervix

Disease

Adenocarcinoma

Características**Age**

30 años

Gender

Mujer

Ethnicity

Afroamericanos

Morphology

Células de aspecto epitelial con forma de piedra en mosaico

Growth properties

Adherente

Datos reglamentarios**Citation**

HK-CRISPR-Nup93-mEGFP (número de catálogo de Cytion 300655)

Biosafety level

1

Células HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655**NCBI_TaxID** 9606**Depositor** Laboratorio Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Esta línea HeLa Kyoto contiene un knock-in mEGFP en el locus endógeno Nup93 para estudios estructurales del poro nuclear. Esta clasificación solo se aplica en Alemania y puede diferir en otros países.**Datos biomoleculares****Protein expression** Nup153, etiqueta mEGFP**Manejo de****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO₃, w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)**Supplements** Complementar el medio con un 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.**Freeze medium** Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Células HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO₂, atmósfera humidificada.

Flask Coating

Ninguno

**Freezing
Procedure**

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

**Shipping
Conditions**

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Células HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, colocar los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.