

Células HK-CRISPR-mEGFP-Nup214 | 300671

Información general

Description

La línea celular HK-CRISPR-mEGFP-Nup214 está diseñada para estudiar Nup214, un componente clave del complejo de poro nuclear (NPC). Utilizando CRISPR-Cas9, esta línea celular añade una etiqueta de proteína verde fluorescente monomérica mejorada (mEGFP) a Nup214, lo que permite la visualización en tiempo real de su papel en el transporte nucleocitoplasmático y la regulación del ciclo celular.

Esta línea celular garantiza unos efectos fuera del objetivo mínimos y permite técnicas de imagen avanzadas para estudiar la estructura y la función de la CPN. Es valiosa para investigar el transporte nucleocitoplasmático y las enfermedades relacionadas, como ciertas leucemias, y es útil para el cribado de compuestos que afectan a la función de la CPN.

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-mEGFP-Nup214 (número de catálogo de Cytion 300671)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Depositor Laboratorio Ellenberg (EMBL)

Células HK-CRISPR-mEGFP-Nup214 | 300671

GMO Status GMO-S1: Esta línea HeLa Kyoto contiene una fusión mEGFP modificada por CRISPR en el locus Nup214 para estudiar el transporte nucleocitoplasmático. Esta clasificación solo se aplica en Alemania y puede diferir en otros países.

Datos biomoleculares

Protein expression Nup214, 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-mEGFP-Nup214 | 300671

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 $300 \times g$ 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% CO_2 , atmósfera humidificada.

Flask Coating

Para una fijación y viabilidad óptimas tras la descongelación, recomendamos utilizar **matraces o placas recubiertos de colágeno**.

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.

Células HK-CRISPR-mEGFP-Nup214 | 300671

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.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque 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 / Perfil genético / HLA

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.