

Células HK-CRISPR-Nup188-mEGFP | 300657**Información general****Description**

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP es una línea celular Hela Kyoto modificada genéticamente. Utiliza la tecnología CRISPR/Cas9 para integrar mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) en el locus Nup188. Nup188 es una proteína nucleoporina clave implicada en el complejo del poro nuclear, esencial para el transporte de moléculas entre el núcleo y el citoplasma. El marcado con mEGFP permite la visualización en tiempo real de Nup188, lo que contribuye al estudio de la dinámica y la función del complejo del poro nuclear.

Esta línea celular es especialmente útil para investigadores centrados en el transporte nuclear y la biología del complejo de poros nucleares. Su marcaje fluorescente permite la observación de Nup188 bajo diversas condiciones, incluyendo tratamientos farmacológicos y modificaciones genéticas. Sus aplicaciones incluyen el cribado de alto contenido, la obtención de imágenes de células vivas y otras técnicas basadas en la fluorescencia, proporcionando valiosos conocimientos sobre el transporte nucleocitoplasmático y la integridad de la envoltura nuclear.

Organism

Humano

Tissue

Endocervix

Disease

Adenocarcinoma

Metastatic site

No aplicable (derivado de HeLa Kyoto; el tumor primario se localiza en el endocervix)

Applications

Biología del complejo de poros nucleares (NPC); transporte nucleocitoplasmático; dinámica y función de Nup188; imágenes de fluorescencia de la envoltura nuclear en células vivas; cribado de alto contenido; estudios de validación de knock-in con CRISPR; evaluación de inhibidores del transporte nuclear

Características**Age**

30 años

Gender

Mujer

Ethnicity

Afroamericanos

Morphology

Células de aspecto epitelial con forma de piedra en mosaico

Cell type

Células epiteliales

Growth properties

Adherente

Células HK-CRISPR-Nup188-mEGFP | 300657**Datos reglamentarios**

Citation	HK-CRISPR-Nup188-mEGFP (número de catálogo de Cytion 300657)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Sin asignar (HK-CRISPR-Nup188-mEGFP es una cepa derivada de HeLa Kyoto modificada mediante CRISPR; cepa parental: HeLa Kyoto CVCL_1922)
Depositor	Laboratorio Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Esta línea HeLa Kyoto contiene un knock-in CRISPR de mEGFP en el locus Nup188, lo que permite la visualización de la dinámica del andamiaje del poro nuclear. Esta clasificación sólo se aplica en Alemania y puede diferir en otros países.

Datos biomoleculares

Protein expression	Nup188, 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 NaHCO ₃ , 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.

Células HK-CRISPR-Nup188-mEGFP | 300657**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.

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 crivial 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 crivial 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% CO_2 , 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.

Células HK-CRISPR-Nup188-mEGFP | 300657

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, 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.