

Cellule HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655

Informazioni generali

Description

La linea cellulare HK-CRISPR-Nup93-mEGFP deriva da cellule Hela Kyoto ed è stata ingegnerizzata con la tecnologia CRISPR/Cas9 per esprimere Nup93 fusa con la proteina fluorescente verde potenziata monomerica (mEGFP). Ciò consente la visualizzazione in tempo reale di Nup93 all'interno dell'involucro nucleare, favorendo lo studio del trasporto nucleare-citoplasmatico, dell'assemblaggio del complesso dei pori nucleari e dell'integrità dell'involucro nucleare.

Nup93 è fondamentale per mantenere l'architettura e la funzione del complesso dei pori nucleari. Il tag mEGFP consente di tracciare le sue dinamiche e interazioni, facilitando le tecniche di imaging ad alta risoluzione come la microscopia confocale. Questa linea cellulare aiuta i ricercatori a comprendere la regolazione genica, il traffico nucleocitoplasmatico e le risposte allo stress cellulare.

La linea cellulare HK-CRISPR-Nup93-mEGFP è una risorsa preziosa per studiare la biologia cellulare e le malattie associate al complesso del poro nucleare, contribuendo a potenziali strategie terapeutiche mirate alle vie di trasporto nucleare. È particolarmente utile per esplorare il ruolo dell'involucro nucleare nella funzione cellulare e nella patologia.

Organism

Umano

Tissue

Endocervice

Disease

Adenocarcinoma

Caratteristiche

Age

30 anni

Gender

Donna

Ethnicity

Afroamericano

Morphology

Cellule simili a quelle epiteliali con forma di pietra a mosaico

Growth properties

Aderente

Dati normativi

Citation

HK-CRISPR-Nup93-mEGFP (numero di catalogo Cytion 300655)

Biosafety level

1

Cellule HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655**NCBI_TaxID** 9606**Depositor** Il laboratorio Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: questa linea HeLa Kyoto contiene un knock-in mEGFP nel locus endogeno Nup93 per studi sulla struttura del poro nucleare. Questa classificazione si applica solo in Germania e può differire altrove.**Dati biomolecolari****Protein expression** Nup153, tag mEGFP**Manipolazione****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

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

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

**Freezing
Procedure**

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

**Shipping
Conditions**

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.