

Cellule HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574**Informazioni generali****Description**

La linea cellulare HK-CRISPR-NUP205-mEGFP è una linea cellulare umana geneticamente modificata per studiare la nucleoporina 205 (NUP205) e il suo ruolo nel complesso del poro nucleare. Modificata con CRISPR-Cas9 per marcare NUP205 con la proteina verde fluorescente monomeric potenziata (mEGFP), consente la visualizzazione e il tracciamento di NUP205 in cellule vive, favorendo la ricerca sui meccanismi di trasporto nucleare e sulla dinamica del complesso dei pori nucleari.

NUP205 è un componente critico del complesso del poro nucleare, che regola il trasporto di molecole tra il nucleo e il citoplasma. La marcatura di NUP205 con mEGFP consente ai ricercatori di osservarne la localizzazione e il comportamento in tempo reale al microscopio a fluorescenza, rendendo questa linea cellulare particolarmente utile per studiare gli aspetti strutturali e funzionali dei complessi poro nucleare e il loro ruolo nell'espressione genica, nell'elaborazione dell'RNA e nel ciclo cellulare.

La linea cellulare HK-CRISPR-NUP205-mEGFP è un potente strumento per studiare i meccanismi di trasporto nucleocitoplasmatico e il ruolo del complesso del poro nucleare nell'omeostasi cellulare. È anche utile per esplorare come le interruzioni della funzione del poro nucleare contribuiscano a malattie come il cancro e i disturbi neurodegenerativi, offrendo un modello robusto per far progredire la nostra comprensione del trasporto nucleare e le sue implicazioni per la salute umana.

Organism Umano**Tissue** Endocervice**Disease** Adenocarcinoma**Metastatic site** Sede del tumore primario (endocervice)**Applications** Biologia dello scaffold del complesso dei pori nucleari (NPC); imaging delle nucleoporine dello scaffold NUP205; visualizzazione di cellule vive con mEGFP; microscopia a super-risoluzione; validazione del knock-in CRISPR; trasporto nucleocitoplasmatico; organizzazione strutturale dell'NPC**Synonyms** HK-CRISPR-NUP205-mEGFP #81**Caratteristiche****Age** 30 anni**Gender** Donna**Ethnicity** Afroamericano**Morphology** Cellule simili a quelle epiteliali con forma di pietra a mosaico

Cellule HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574**Cell type** Cellule epiteliali**Growth properties** Aderente**Dati normativi****Citation** HK-CRISPR-NUP205-mEGFP (numero di catalogo Cytion 301574)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR49**Depositor** Il laboratorio Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: questa linea HeLa Kyoto contiene una fusione mEGFP ingegnerizzata con CRISPR al locus NUP205 per la ricerca sui pori nucleari a livello di scaffold. Questa classificazione si applica solo in Germania e può variare altrove.**Dati biomolecolari****Products** EGFP (proteina verde fluorescente potenziata)**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.

Cellule HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Split ratio Si raccomanda un rapporto di 1:3

Fluid renewal da 2 a 3 volte alla settimana

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongellamento, 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.

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

Cellule HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

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.

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 di qualità / Profilo genetico / HLA

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.