

Cellule HK-CRISPR-mEGFP-Nup153 | 300656

Informazioni generali

Description

La linea cellulare HK-CRISPR-mEGFP-Nup153 è un modello cellulare umano ingegnerizzato per studiare le dinamiche del complesso del poro nucleare (NPC). Utilizzando CRISPR-Cas9, questa linea cellulare integra un tag di proteina verde fluorescente potenziata monomerica (mEGFP) nel gene Nup153, un componente critico della NPC. Ciò consente di visualizzare in tempo reale il comportamento della NPC in cellule vive.

Questa linea cellulare è utile per studiare l'assemblaggio e lo smontaggio delle NPC e il loro ruolo nel trasporto nucleocitoplasmatico, nell'esportazione di mRNA e nell'integrità dell'involucro nucleare. L'editing preciso del genoma con la tecnologia CRISPR garantisce risultati affidabili, rendendo questa linea cellulare preziosa per la comprensione delle funzioni delle NPC in condizioni normali e patologiche.

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-mEGFP-Nup153 (numero di catalogo Cytion 300656)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

Depositor

Il laboratorio Ellenberg (EMBL)

Cellule HK-CRISPR-mEGFP-Nup153 | 300656

GMO Status	GMO-S1: questa linea HeLa Kyoto contiene una fusione mEGFP ingegnerizzata con CRISPR al locus Nup153 per l'imaging del complesso del poro nucleare. Questa classificazione si applica solo in Germania e può variare 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 NaHCO ₃ , 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-mEGFP-Nup153 | 300656

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% CO₂, 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-mEGFP-Nup153 | 300656

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.