

Cellule HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 | 301575

Informazioni generali

Description

La linea cellulare HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 è un derivato geneticamente modificato delle cellule HeLa di Kyoto, note per la loro robustezza e l'uso diffuso nella ricerca scientifica. Questa linea cellulare è stata modificata con la tecnologia CRISPR-Cas9 per esprimere mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) marcato Nup358, un componente cruciale del complesso del poro nucleare (NPC). Nup358, noto anche come RanBP2, svolge un ruolo significativo nel trasporto nucleocitoplasmatico, nell'assemblaggio del fuso mitotico e in altri processi cellulari. Il tag mEGFP consente la visualizzazione di Nup358, facilitando l'osservazione in tempo reale delle sue dinamiche e interazioni all'interno della cellula.

Le cellule HeLa Kyoto, una sotto-linea delle cellule HeLa originali, sono caratterizzate da adattabilità e crescita stabile in coltura. Il sistema CRISPR-Cas9 di questa linea cellulare consente un editing genomico preciso, garantendo che il tag mEGFP sia fuso con precisione alla proteina Nup358 senza interromperne la funzione. Ciò rende la linea cellulare HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 uno strumento prezioso per studiare gli aspetti strutturali e funzionali del complesso del poro nucleare. I ricercatori possono utilizzare questa linea cellulare per approfondire i meccanismi che regolano il trasporto nucleocitoplasmatico e il ruolo di Nup358 nell'omeostasi cellulare e negli stati patologici, come il cancro e le infezioni virali.

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-Nup358 (numero di catalogo Cytion 301575)

Biosafety level 1

Cellule HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 | 301575**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FS**Depositor** Il laboratorio Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: questa linea HeLa Kyoto contiene un tag mEGFP integrato con CRISPR nel locus RanBP2/Nup358, che consente di visualizzare i filamenti citoplasmatici del poro nucleare. Questa classificazione si applica solo in Germania e può differire 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.**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-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-RanBP2/Nup358 | 301575

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-RanBP2/Nup358 | 301575

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.