

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-cellen | 301574

Algemene informatie

Description

De HK-CRISPR-NUP205-mEGFP cellijn is een genetisch gemanipuleerde menselijke cellijn die is ontworpen om nucleoporine 205 (NUP205) en zijn rol in het nucleaire poriëcomplex te bestuderen. Gemodificeerd met CRISPR-Cas9 om NUP205 te taggen met monomeer versterkt groen fluorescerend eiwit (mEGFP), maakt het visualisatie en tracering van NUP205 in levende cellen mogelijk, wat onderzoek naar nucleaire transportmechanismen en de dynamica van het nucleaire poriëcomplex ondersteunt.

NUP205 is een essentieel onderdeel van het nucleaire porecomplex, dat het transport van moleculen tussen de kern en het cytoplasma reguleert. Door NUP205 te taggen met mEGFP kunnen onderzoekers de lokalisatie en het gedrag ervan in real-time observeren onder een fluorescentiemicroscopie, waardoor deze cellijn bijzonder nuttig is voor het bestuderen van de structurele en functionele aspecten van nucleaire poriëcomplexen en hun rol in genexpressie, RNA-verwerking en de celcyclus.

De HK-CRISPR-NUP205-mEGFP cellijn is een krachtig hulpmiddel voor het onderzoeken van nucleocytoplasmatische transportmechanismen en de rol van het nucleaire poriëcomplex in cellulaire homeostase. Het is ook waardevol voor het onderzoeken hoe verstoringen in de werking van de nucleaire porie bijdragen aan ziekten zoals kanker en neurodegeneratieve aandoeningen, en biedt een robuust model voor het bevorderen van ons begrip van nucleair transport en de implicaties daarvan voor de menselijke gezondheid.

Organism

Mens

Tissue

Endocervix

Disease

Adenocarcinoom

Metastatic site

Locatie van de primaire tumor (endocervix)

Applications

Biologie van het skelet van het nucleaire poriëcomplex (NPC); beeldvorming van het NUP205-skelet van nucleoporines; visualisatie van levende cellen met mEGFP; superresolutiemicroscopie; validatie van CRISPR-knock-in; nucleocytoplasmatisch transport; structurele organisatie van het NPC

Synonyms

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP #81

Kenmerken

Age

30 jaar

Gender

Vrouw

Ethnicity

Afro-Amerikaan

Morphology

Epitheelachtige cellen met mozaïeksteenvorm

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-cellen | 301574

Cell type Epitheelcellen**Growth properties** Aanhangend**Regelgevende gegevens****Citation** HK-CRISPR-NUP205-mEGFP (Cytion catalogusnummer 301574)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR49**Depositor** Het Ellenberg Lab (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Deze HeLa Kyoto-lijn bevat een CRISPR-engineered mEGFP-fusie op de NUP205 locus voor onderzoek naar nucleaire poriën op scaffold-niveau. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders afwijken.**Biomoleculaire gegevens****Products** EGFP (verbeterd groen fluorescerend eiwit)**Omgaan met****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-cellen | 301574

Split ratio	Een verhouding van 1:3 wordt aanbevolen
Fluid renewal	2 tot 3 keer per week
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacion met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% _{CO2} , bevochtigde atmosfeer.
Flask Coating	Geen

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-cellen | 301574

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.