

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP Cellen | 300657

Algemene informatie

Description

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP is een genetisch gemodificeerde HeLa Kyoto cellijn. Deze maakt gebruik van CRISPR/Cas9-technologie om mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) te integreren in de Nup188-locus. Nup188 is een belangrijk nucleoporine-eiwit dat betrokken is bij het nucleaire poriëncomplex, dat essentieel is voor het transport van moleculen tussen de kern en het cytoplasma. De mEGFP tagging maakt real-time visualisatie van Nup188 mogelijk, wat helpt bij het bestuderen van de dynamiek en functie van het nucleaire poriecomplex.

Deze cellijn is vooral nuttig voor onderzoekers die zich richten op nucleair transport en de biologie van het nucleaire poriecomplex. De fluorescerende tagging maakt observatie van Nup188 onder verschillende omstandigheden mogelijk, waaronder behandelingen met medicijnen en genetische modificaties. Toepassingen zijn onder andere high-content screening, live-cell imaging en andere op fluorescentie gebaseerde technieken, die waardevolle inzichten verschaffen in nucleocytoplasmatisch transport en de integriteit van de nucleaire envelop.

Organism

Mens

Tissue

Endocervix

Disease

Adenocarcinoom

Metastatic site

Niet van toepassing (afgeleid van HeLa Kyoto; primaire tumorlocatie is de endocervix)

Applications

Biologie van het nucleaire poriëncomplex (NPC); transport tussen kern en cytoplasma; dynamiek en functie van Nup188; fluorescentiebeeldvorming van de kernmembraan in levende cellen; high-content screening; validatiestudies van CRISPR-knock-in; evaluatie van remmers van het transport door de kern

Kenmerken

Age

30 jaar

Gender

Vrouw

Ethnicity

Afro-Amerikaan

Morphology

Epitheelachtige cellen met mozaïeksteenvorm

Cell type

Epitheelcellen

Growth properties

Aanhangend

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP Cellen | 300657**Regelgevende gegevens**

Citation	HK-CRISPR-Nup188-mEGFP (Cytion catalogusnummer 300657)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Niet toegewezen (HK-CRISPR-Nup188-mEGFP is een met CRISPR gemodificeerde afstammeling van HeLa Kyoto; oorspronkelijke HeLa Kyoto CVCL_1922)
Depositor	Het Ellenberg Lab (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Deze HeLa Kyoto-lijn bevat een CRISPR-knock-in van mEGFP op de Nup188-locus, waardoor visualisatie van de dynamica van de nucleaire poriësteiger mogelijk is. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Protein expression	Nup188, mEGFP-tag
---------------------------	-------------------

Omgaan met

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , 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 resuspenderen en vervolgens centrifugeren 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.
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (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.

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP Cellen | 300657**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 cryoflacon 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% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

**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.

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP Cellen | 300657

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 en moleculaire analyse

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.