

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-celler | 301574

Generell informasjon

Description

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-cellelinjen er en genmodifisert human cellelinje som er utviklet for å studere nukleoporin 205 (NUP205) og dets rolle i kjerneporkomplekset. Den er modifisert med CRISPR-Cas9 for å merke NUP205 med monomert forsterket grønt fluorescerende protein (mEGFP), noe som muliggjør visualisering og sporing av NUP205 i levende celler og bidrar til forskning på nukleære transportmekanismer og dynamikken i kjerneporkomplekset.

NUP205 er en viktig komponent i kjerneporkomplekset, som regulerer molekyltransporten mellom kjernen og cytoplasmaet. Ved å merke NUP205 med mEGFP kan forskere observere lokalisering og oppførsel i sanntid under et fluorescensmikroskop, noe som gjør denne cellelinjen spesielt nyttig for å studere kjerneporkompleksenes strukturelle og funksjonelle aspekter og deres rolle i genuttrykk, RNA-prosessering og cellyklus.

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-cellelinjen er et kraftig verktøy for å undersøke nukleocytoplasmatiske transportmekanismer og kjerneporekompleksets rolle i cellens homeostase. Den er også verdifull for å utforske hvordan forstyrrelser i kjerneporefunksjonen bidrar til sykdommer som kreft og nevrodegenerative lidelser, og den er en robust modell for å øke vår forståelse av kjernetransport og dens betydning for menneskers helse.

Organism Menneskelig

Tissue Endocervix

Disease Adenokarsinom

Synonyms HK-CRISPR-NUP205-mEGFP #81

Kjennetegn

Age 30 år

Gender Kvinne

Ethnicity Afroamerikaner

Morphology Epitel-lignende celler med mosaikksteinform

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-celler | 301574

| | |
|-----------------------------|--|
| Citation | HK-CRISPR-NUP205-mEGFP (Cytion katalognummer 301574) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 9606 |
| CellosaurusAccession | CVCL_UR49 |
| Depositor | Ellenberg-laboratoriet (EMBL) |
| GMO Status | GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linjen inneholder en CRISPR-konstruert mEGFP-fusjon ved NUP205-locus for forskning på kjerneporer på stillasnivå. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder. |

Biomolekylære data

| | |
|-----------------|---|
| Products | EGFP (Enhanced Green Fluorescent Protein) |
|-----------------|---|

Håndtering

| | |
|-----------------------------|---|
| Culture Medium | DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO ₃ , m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a) |
| Supplements | Suppler mediet med 10 % FBS |
| Dissociation Reagent | Accutase |
| Subculturing | Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium. |
| Split ratio | Et forhold på 1:3 anbefales |
| Fluid renewal | 2 til 3 ganger per uke |
| Freeze medium | Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress. |

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-celler | 301574

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-celler | 301574

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.