

HK-CRISPR-mEGFP-Nup153-celler | 300656

Generell informasjon

Description

HK-CRISPR-mEGFP-Nup153-cellelinjen er en human cellemodell som er konstruert for å studere dynamikken i kjernepore-komplekset (NPC). Ved hjelp av CRISPR-Cas9 integrerer denne cellelinjen et monomert forsterket grønt fluorescerende protein (mEGFP) i Nup153-genet, en kritisk komponent i NPC. Dette muliggjør sanntidsvisualisering av NPC-atferd i levende celler.

Denne cellelinjen er nyttig for å studere montering og demontering av NPC og deres rolle i nukleocytoplasmatisk transport, mRNA-eksport og kjernekjerneskjoldets integritet. Den presise genomredigeringen med CRISPR-teknologi sikrer pålitelige resultater, noe som gjør denne cellelinjen verdifull for å forstå NPC-funksjoner både under normale forhold og ved sykdom.

Organism

Menneskelig

Tissue

Endocervix

Disease

Adenokarsinom

Kjennetegn

Age

30 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Afroamerikaner

Morphology

Epitel-lignende celler med mosaikksteinform

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

HK-CRISPR-mEGFP-Nup153 (Cytion katalognummer 300656)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

Depositor

Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

HK-CRISPR-mEGFP-Nup153-celler | 300656

GMO Status	GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linjen inneholder en CRISPR-konstruert mEGFP-fusjon ved Nup153-loket for avbildning av kjerneporkomplekset. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.
-------------------	--

Biomolekylære data

Protein expression	Nup153, mEGFP-tag
---------------------------	-------------------

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, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
---------------------	---

Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.
----------------------	--

HK-CRISPR-mEGFP-Nup153-celler | 300656**Thawing and
Culturing Cells**

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst 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 °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 °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 x 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 dyrkningsmedium. 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 °C, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

**Freezing
Procedure**

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

HK-CRISPR-mEGFP-Nup153-celler | 300656

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 og molekylær analyse

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.