

Komórki HK-CRISPR-Nup62-mEGFP | 300659

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa HK-CRISPR-Nup62-mEGFP jest ludzkim modelem komórkowym z genem Nup62 oznaczonym monomerycznym białkiem zielonej fluorescencji (mEGFP). Modyfikacja ta pozwala na wizualizację w czasie rzeczywistym Nup62 w otocze jądrowej, wspomagając badania nad transportem jądrowym, montażem i dynamiką NPC. Precyzyjna edycja genomu została osiągnięta przy użyciu technologii CRISPR-Cas9, dzięki czemu jest to niezawodny model do badania roli Nup62 w procesach komórkowych.

Ta linia komórkowa jest cenna dla badań nad transportem nukleocytoplazmatycznym, regulacją cyklu komórkowego i architekturą jądrową. Fluorescencyjne znakowanie Nup62 umożliwia obrazowanie w wysokiej rozdzielczości i śledzenie żywych komórek, ułatwiając mikroskopię fluorescencyjną i inne techniki obrazowania. Naukowcy mogą badać molekularne mechanizmy wymiany jądrowo-cytoplazmatycznej i rolę Nup62 w chorobach takich jak rak i zaburzenia neurodegeneracyjne.

Organism Człowiek

Tissue Szyjka macicy

Disease Gruczolakorak

Charakterystyka

Age 30 lat

Gender Kobieta

Ethnicity Afroamerykanin

Morphology Komórki podobne do nabłonka o mozaikowym kształcie kamienia

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation HK-CRISPR-Nup62-mEGFP (numer katalogowy Cytion 300659)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Komórki HK-CRISPR-Nup62-mEGFP | 300659**Depositor** Laboratorium Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ta linia HeLa Kyoto zawiera Nup62 znakowany mEGFP wygenerowany za pomocą CRISPR, umożliwiając obrazowanie składników centralnego kanatu porów jądrowych. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.**Dane biomolekularne****Protein expression** Nup62, tag mEGFP**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzuppełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki HK-CRISPR-Nup62-mEGFP | 300659**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki HK-CRISPR-Nup62-mEGFP | 300659

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.