

Células HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655**Informações gerais****Description**

A linha celular HK-CRISPR-Nup93-mEGFP é derivada de células Hela Kyoto e foi modificada utilizando a tecnologia CRISPR/Cas9 para expressar Nup93 fundida com a proteína fluorescente verde monomérica melhorada (mEGFP). Isto permite a visualização em tempo real de Nup93 dentro do envelope nuclear, ajudando no estudo do transporte nuclear-citoplasmático, montagem do complexo de poros nucleares e integridade do envelope nuclear.

O Nup93 é crucial para manter a arquitetura e a função do complexo de poros nucleares. A etiqueta mEGFP permite seguir a sua dinâmica e interações, facilitando técnicas de imagem de alta resolução como a microscopia confocal. Esta linha celular ajuda os investigadores a compreender a regulação dos genes, o tráfico nucleocitoplasmático e as respostas celulares ao stress.

A linha celular HK-CRISPR-Nup93-mEGFP é um recurso valioso para o estudo da biologia celular e das doenças associadas ao complexo de poros nucleares, contribuindo para potenciais estratégias terapêuticas direcionadas para as vias de transporte nuclear. É particularmente útil para explorar o papel do envelope nuclear na função celular e na patologia.

Organism

Humano

Tissue

Endocérvix

Disease

Adenocarcinoma

Caraterísticas**Age**

30 anos

Gender

Feminino

Ethnicity

Afro-americano

Morphology

Células de tipo epitelial com forma de pedra em mosaico

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares**Citation**

HK-CRISPR-Nup93-mEGFP (número de catálogo 300655 da Cytion)

Biosafety level

1

Células HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655**NCBI_TaxID** 9606**Depositor** O Laboratório Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Esta linha HeLa Kyoto contém um knock-in mEGFP no locus endógeno Nup93 para estudos estruturais dos poros nucleares. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.**Dados biomoleculares****Protein expression** Nup153, etiqueta mEGFP**Manuseamento****Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO₂, atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

**Freezing
Procedure**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.