

Células HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574**Informações gerais****Description**

A linha celular HK-CRISPR-NUP205-mEGFP é uma linha celular humana geneticamente modificada, concebida para estudar a nucleoporina 205 (NUP205) e o seu papel no complexo do poro nuclear. Modificada com CRISPR-Cas9 para marcar a NUP205 com a proteína fluorescente verde monomérica melhorada (mEGFP), permite a visualização e o rastreio da NUP205 em células vivas, ajudando na investigação dos mecanismos de transporte nuclear e da dinâmica do complexo de poros nucleares.

O NUP205 é um componente crítico do complexo do poro nuclear, regulando o transporte de moléculas entre o núcleo e o citoplasma. A marcação do NUP205 com mEGFP permite aos investigadores observar a sua localização e comportamento em tempo real num microscópio de fluorescência, tornando esta linha celular particularmente útil para estudar os aspectos estruturais e funcionais dos complexos de poros nucleares e o seu papel na expressão genética, no processamento do ARN e no ciclo celular.

A linha celular HK-CRISPR-NUP205-mEGFP é uma ferramenta poderosa para investigar os mecanismos de transporte nucleocitoplasmático e o papel do complexo de poro nuclear na homeostase celular. É também valiosa para explorar a forma como as perturbações na função do poro nuclear contribuem para doenças como o cancro e as doenças neurodegenerativas, oferecendo um modelo robusto para fazer avançar a nossa compreensão do transporte nuclear e das suas implicações para a saúde humana.

Organism Humano**Tissue** Endocérvix**Disease** Adenocarcinoma**Synonyms** HK-CRISPR-NUP205-mEGFP #81**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**

Células HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Citation	HK-CRISPR-NUP205-mEGFP (número de catálogo Cytion 301574)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_UR49
Depositor	O Laboratório Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Esta linha HeLa Kyoto contém uma fusão mEGFP com engenharia CRISPR no locus NUP205 para investigação de poros nucleares ao nível do andaime. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares

Products	EGFP (Proteína fluorescente verde melhorada)
-----------------	--

Manuseamento

Culture Medium	DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , 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.
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
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-NUP205-mEGFP | 301574

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 $300 \times g$ 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% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

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-NUP205-mEGFP | 301574

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 / Perfil genético / HLA

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.