

Células HK-CRISPR-Nup188-mEGFP | 300657**Informações gerais****Description**

A HK-CRISPR-Nup188-mEGFP é uma linha celular Hela Kyoto geneticamente modificada. Utiliza a tecnologia CRISPR/Cas9 para integrar a mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) no locus Nup188. A Nup188 é uma proteína nucleoporina chave envolvida no complexo do poro nuclear, essencial para o transporte de moléculas entre o núcleo e o citoplasma. A marcação com mEGFP permite a visualização em tempo real da Nup188, auxiliando no estudo da dinâmica e função do complexo do poro nuclear.

Esta linha celular é particularmente útil para investigadores que se dedicam ao transporte nuclear e à biologia do complexo de poros nucleares. A sua marcação fluorescente permite a observação da Nup188 em várias condições, incluindo tratamentos com medicamentos e modificações genéticas. As aplicações incluem o rastreio de alto conteúdo, a imagiologia de células vivas e outras técnicas baseadas na fluorescência, fornecendo informações valiosas sobre o transporte nucleocitoplasmático e a integridade do invólucro nuclear.

Organism

Humano

Tissue

Endocérvix

Disease

Adenocarcinoma

Metastatic site

Não aplicável (derivado da linha celular HeLa Kyoto; o local do tumor primário é a endocérvix)

Applications

Biologia do complexo de poros nucleares (NPC); transporte nucleocitoplasmático; dinâmica e função da Nup188; imagiologia por fluorescência em células vivas do envelope nuclear; triagem de alto conteúdo; estudos de validação de knock-in com CRISPR; avaliação de inibidores do transporte nuclear

Caraterísticas**Age**

30 anos

Gender

Feminino

Ethnicity

Afro-americano

Morphology

Células de tipo epitelial com forma de pedra em mosaico

Cell type

Células epiteliais

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares

Células HK-CRISPR-Nup188-mEGFP | 300657

Citation	HK-CRISPR-Nup188-mEGFP (número de catálogo 300657 da Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Não atribuído (HK-CRISPR-Nup188-mEGFP é uma variante da linha HeLa Kyoto modificada por CRISPR; linha parental: HeLa Kyoto CVCL_1922)
Depositor	O Laboratório Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Esta linha HeLa Kyoto contém um knock-in CRISPR de mEGFP no locus Nup188, permitindo a visualização da dinâmica do andaime do poro nuclear. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode ser diferente noutros países.

Dados biomoleculares

Protein expression	Nup188, 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 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.
---------------------	---

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-Nup188-mEGFP | 300657**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-Nup188-mEGFP | 300657

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.