

Células HK-CRISPR-Pom121-mCherry | 300658

Informações gerais

Description

A linha celular HK-CRISPR-Pom121-mCherry é uma variante geneticamente modificada das células HeLa Kyoto, concebida para investigação celular avançada. Estas células foram modificadas utilizando a tecnologia CRISPR-Cas9 para adicionar uma etiqueta fluorescente mCherry ao gene Pom121, um componente chave do complexo do poro nuclear (NPC). Esta modificação permite que os investigadores visualizem o Pom121 em tempo real, ajudando nos estudos da dinâmica nuclear e das funções do NPC.

A etiqueta mCherry, que emite fluorescência vermelha, facilita o exame pormenorizado do comportamento do NPC e do transporte nuclear-citoplasmático utilizando microscopia de fluorescência. Esta linha celular é uma ferramenta valiosa para investigar as proteínas do poro nuclear, a regulação da expressão genética, o controlo do ciclo celular e a transdução de sinais.

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-Pom121-mCherry (número de catálogo 300658 da Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Depositor O Laboratório Ellenberg (EMBL)

Células HK-CRISPR-Pom121-mCherry | 300658

GMO Status GMO-S1: Esta linha HeLa Kyoto contém uma etiqueta mCherry mediada por CRISPR na Pom121 que permite a visualização dos componentes da membrana do poro nuclear. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares

Protein expression Pom121, etiqueta mCherry

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-Pom121-mCherry | 300658

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, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado 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

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-Pom121-mCherry | 300658

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.