

Celule HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655

Informații generale

Description

Linia celulară HK-CRISPR-Nup93-mEGFP este derivată din celulele HeLa Kyoto și modificată utilizând tehnologia CRISPR/Cas9 pentru a exprima Nup93 fuzionat cu proteina fluorescentă verde monomerică îmbunătățită (mEGFP). Acest lucru permite vizualizarea în timp real a Nup93 în cadrul învelișului nuclear, ajutând la studierea transportului nuclear-citoplasmatic, a asamblării complexului porilor nucleari și a integrității învelișului nuclear.

Nup93 este esențial pentru menținerea arhitecturii și funcției complexului de pori nucleari. Eticheta mEGFP permite urmărirea dinamicii și interacțiunilor sale, facilitând tehnicile de imagistică de înaltă rezoluție precum microscopia confocală. Această linie celulară ajută cercetătorii să înțeleagă reglarea genelor, traficul nucleocitoplasmatic și răspunsurile celulare la stres.

Linia celulară HK-CRISPR-Nup93-mEGFP este o resursă valoroasă pentru studiul biologiei celulare și al bolilor asociate complexului porilor nucleari, contribuind la potențiale strategii terapeutice care vizează căile de transport nuclear. Este deosebit de utilă pentru explorarea rolului plicului nuclear în funcția celulară și patologie.

Organism Om**Tissue** Endocervix**Disease** Adenocarcinom

Caracteristici

Age 30 de ani**Gender** Femei**Ethnicity** African american**Morphology** Celule de tip epitelial cu formă de piatră mozaicată**Growth properties** Aderent

Date de reglementare

Citation HK-CRISPR-Nup93-mEGFP (număr de catalog Cytion 300655)**Biosafety level** 1

Celule HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655**NCBI_TaxID** 9606**Depositor** Laboratorul Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Această linie HeLa Kyoto conține un knock-in mEGFP la locusul endogen Nup93 pentru studii structurale ale porilor nucleari. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte părți.**Date biomoleculare****Protein expression** Nup153, mEGFP-tag**Manipulare****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

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

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

**Freezing
Procedure**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

**Shipping
Conditions**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.