

Celule HK-CRISPR-mEGFP-Nup214 | 300671

Informații generale

Description

Linia celulară HK-CRISPR-mEGFP-Nup214 este concepută pentru a studia Nup214, o componentă cheie a complexului porului nuclear (NPC). Folosind CRISPR-Cas9, această linie celulară adaugă o proteină fluorescentă verde monomerică îmbunătățită (mEGFP) la Nup214, permițând vizualizarea în timp real a rolului său în transportul nucleocitoplasmatic și în reglarea ciclului celular.

Această linie celulară asigură efecte off-target minime și permite tehnici avansate de imagistică pentru a studia structura și funcția NPC. Aceasta este valoroasă pentru investigarea transportului nucleocitoplasmatic și a bolilor conexe, cum ar fi anumite leucemii, și este utilă pentru screeningul compușilor care afectează funcția NPC.

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-mEGFP-Nup214 (număr de catalog Cytion 300671)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Depositor Laboratorul Ellenberg (EMBL)

Celule HK-CRISPR-mEGFP-Nup214 | 300671

GMO Status OMG-S1: Această linie HeLa Kyoto conține o fuziune mEGFP modificată prin CRISPR la nivelul locusului Nup214 pentru studiul transportului nucleocitoplasmatic. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte părți.

Date biomoleculare

Protein expression Nup214, 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-mEGFP-Nup214 | 300671

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

Pentru atașare optimă și viabilitate după decongelare, vă recomandăm să utilizați **flacoane sau plăci acoperite cu colagen**.

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.

Celule HK-CRISPR-mEGFP-Nup214 | 300671

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.

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 / Profil genetic / HLA

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.