

Celule HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Informații generale

Description

Linia celulară HK-CRISPR-NUP205-mEGFP este o linie celulară umană modificată genetic, concepută pentru a studia nucleoporina 205 (NUP205) și rolul său în complexul porului nuclear. Modificată cu CRISPR-Cas9 pentru a marca NUP205 cu proteină fluorescentă verde monomerică îmbunătățită (mEGFP), aceasta permite vizualizarea și urmărirea NUP205 în celule vii, ajutând cercetarea mecanismelor de transport nuclear și dinamica complexului porului nuclear.

NUP205 este o componentă esențială a complexului porului nuclear, care reglează transportul moleculelor între nucleu și citoplasmă. Marcarea NUP205 cu mEGFP permite cercetătorilor să observe localizarea și comportamentul său în timp real la microscopul cu fluorescență, ceea ce face ca această linie celulară să fie deosebit de utilă pentru studierea aspectelor structurale și funcționale ale complexelor de pori nucleari și a rolului acestora în exprimarea genelor, procesarea ARN și ciclul celular.

Linia celulară HK-CRISPR-NUP205-mEGFP este un instrument puternic pentru investigarea mecanismelor de transport nucleocitoplasmatic și a rolului complexului porului nuclear în homeostazia celulară. De asemenea, este valoroasă pentru explorarea modului în care perturbările funcției porului nuclear contribuie la boli precum cancerul și tulburările neurodegenerative, oferind un model robust pentru a avansa în înțelegerea transportului nuclear și a implicațiilor acestuia pentru sănătatea umană.

Organism Om**Tissue** Endocervix**Disease** Adenocarcinom**Metastatic site** Localizarea tumorii primare (endocervix)**Applications** Biologia scheletului complexului porilor nucleari (NPC); imagistica nucleoporinei NUP205 din scheletul NPC; vizualizarea celulelor vii cu mEGFP; microscopie de super-rezoluție; validarea knock-in-ului CRISPR; transportul nucleocitoplasmatic; organizarea structurală a NPC**Synonyms** HK-CRISPR-NUP205-mEGFP #81

Caracteristici

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

Celule HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Cell type Celule epiteliale**Growth properties** Aderent

Date de reglementare

Citation HK-CRISPR-NUP205-mEGFP (număr de catalog Cytion 301574)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR49**Depositor** Laboratorul Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Această linie HeLa Kyoto conține o fuziune mEGFP modificată prin CRISPR la nivelul locusului NUP205 pentru cercetarea porilor nucleari la nivel de schelă. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte părți.

Date biomoleculare

Products EGFP (proteină fluorescentă verde îmbunătățită)

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.

Celule HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574**Fluid renewal** de 2 până la 3 ori pe săptămână**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.**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**

Linile 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-NUP205-mEGFP | 301574

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.