

Celule HK-CRISPR-mEGFP-Nup153 | 300656

Informații generale

Description

Linia celulară HK-CRISPR-mEGFP-Nup153 este un model celular uman proiectat pentru a studia dinamica complexului porilor nucleari (NPC). Folosind CRISPR-Cas9, această linie celulară integrează o proteină fluorescentă verde monomerică îmbunătățită (mEGFP) în gena Nup153, o componentă esențială a NPC. Acest lucru permite vizualizarea în timp real a comportamentului NPC în celule vii.

Această linie celulară este utilă pentru studierea asamblării și dezasamblării NPC și a rolului lor în transportul nucleocitoplasmatic, exportul ARNm și integritatea învelișului nuclear. Editarea precisă a genomului cu ajutorul tehnologiei CRISPR asigură rezultate fiabile, făcând această linie celulară valoroasă pentru înțelegerea funcțiilor NPC atât în condiții normale, cât și în condiții de boală.

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 mozaică

Growth properties

Aderent

Date de reglementare

Citation

HK-CRISPR-mEGFP-Nup153 (număr de catalog Cytion 300656)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

Depositor

Laboratorul Ellenberg (EMBL)

Celule HK-CRISPR-mEGFP-Nup153 | 300656

GMO Status	GMO-S1: Această linie HeLa Kyoto conține o fuziune mEGFP modificată prin CRISPR la nivelul locusului Nup153 pentru imagistica complexului 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 NaHCO ₃ , 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-Nup153 | 300656**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-mEGFP-Nup153 | 300656

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.