

Celule HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 | 301575

Informații generale

Description

Linia celulară HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 este un derivat modificat genetic al celulelor HeLa Kyoto, cunoscute pentru robustețea și utilizarea lor pe scară largă în cercetarea științifică. Această linie celulară a fost modificată cu ajutorul tehnologiei CRISPR-Cas9 pentru a exprima mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) marcat Nup358, o componentă esențială a complexului porului nuclear (NPC). Nup358, cunoscut și sub numele de RanBP2, joacă un rol important în transportul nucleocitoplasmatic, asamblarea fusului mitotic și alte procese celulare. Eticheta mEGFP permite vizualizarea Nup358, facilitând observarea în timp real a dinamicii și interacțiunilor sale în cadrul celulei.

Celulele HeLa Kyoto, o sublinie a celulelor HeLa originale, sunt caracterizate prin adaptabilitate și creștere stabilă în cultură. Sistemul CRISPR-Cas9 din această linie celulară permite editarea genomică precisă, asigurând fuziunea precisă a etichetei mEGFP la proteina Nup358 fără a-i perturba funcția. Aceasta face din linia celulară HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 un instrument valoros pentru studierea aspectelor structurale și funcționale ale complexului porului nuclear. Cercetătorii pot utiliza această linie celulară pentru a obține informații despre mecanismele care guvernează transportul nucleocitoplasmatic și rolul Nup358 în homeostazia celulară și în stările de boală, cum ar fi cancerul și infecțiile virale.

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-Nup358 (număr de catalog Cytion 301575)

Biosafety level

1

Celule HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 | 301575**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FS**Depositor** Laboratorul Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Această linie HeLa Kyoto conține o etichetă mEGFP integrată prin CRISPR la locusul RanBP2/Nup358, care permite vizualizarea filamentelor citoplasmatiche ale porului nuclear. 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.**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.

Celule HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 | 301575**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-RanBP2/Nup358 | 301575

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.