

HK-CRISPR-Nup93-mEGFP-celler | 300655

Allmän information

Description

Cellinjen HK-CRISPR-Nup93-mEGFP härrör från Hela Kyoto-celler och har konstruerats med hjälp av CRISPR/Cas9-teknik för att uttrycka Nup93 fusionerat med monomert förstärkt grönt fluorescerande protein (mEGFP). Detta möjliggör visualisering i realtid av Nup93 inom kärnhöljet, vilket underlättar studier av kärncytoplasmisk transport, kärnporskomplexets sammansättning och kärnhöljets integritet.

Nup93 är avgörande för att upprätthålla kärnporkomplexets arkitektur och funktion. Med mEGFP-taggen kan man spåra dess dynamik och interaktioner, vilket underlättar högupplösta avbildningstekniker som konfokalmikroskopi. Denna cellinje hjälper forskare att förstå genreglering, nukleocytoplasmisk trafficking och cellulära stressresponser.

HK-CRISPR-Nup93-mEGFP-cellinjen är en värdefull resurs för att studera cellbiologi och sjukdomar som är associerade med kärnporskomplexet, vilket bidrar till potentiella terapeutiska strategier som riktar sig mot kärntransportvägar. Den är särskilt användbar för att utforska kärnhöljets roll i cellulär funktion och patologi.

Organism Människan

Tissue Endocervix

Disease Adenocarcinom

Egenskaper

Age 30 år

Gender Kvinna

Ethnicity Afroamerikan

Morphology Epitelliknande celler med mosaikstensform

Growth properties Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation HK-CRISPR-Nup93-mEGFP (Cytion katalognummer 300655)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

HK-CRISPR-Nup93-mEGFP-celler | 300655

Depositor Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Denna HeLa Kyoto-linje innehåller en mEGFP knock-in på det endogena Nup93-locuset för strukturstudier av kärnporer. Denna klassificering gäller endast i Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.

Biomolekylära data

Protein expression Nup153, mEGFP-tag

Hantering

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements Komplettera mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Freeze medium Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

HK-CRISPR-Nup93-mEGFP-celler | 300655

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanor; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

HK-CRISPR-Nup93-mEGFP-celler | 300655

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.