

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-celler | 301574

Allmän information

Description

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-cellinjen är en genetiskt modifierad human cellinje utformad för att studera nukleoporin 205 (NUP205) och dess roll i kärnporkomplexet. Modifierad med CRISPR-Cas9 för att märka NUP205 med monomert förstärkt grönt fluorescerande protein (mEGFP), möjliggör den visualisering och spårning av NUP205 i levande celler, vilket underlättar forskning om nukleära transportmekanismer och kärnporkomplexets dynamik.

NUP205 är en kritisk komponent i kärnporkomplexet som reglerar molekyltransporten mellan kärnan och cytoplasman. Genom att märka NUP205 med mEGFP kan forskare observera dess lokalisering och beteende i realtid under ett fluorescensmikroskop, vilket gör denna cellinje särskilt användbar för att studera kärnporkomplexens strukturella och funktionella aspekter och deras roller i genuttryck, RNA-bearbetning och cellcykeln.

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-cellinjen är ett kraftfullt verktyg för att undersöka nukleocytoplasmatiska transportmekanismer och kärnporkomplexets roll i cellulär homeostas. Den är också värdefull för att utforska hur störningar i kärnporkomplexets funktion bidrar till sjukdomar som cancer och neurodegenerativa sjukdomar, och erbjuder en robust modell för att öka vår förståelse av kärntransport och dess konsekvenser för människors hälsa.

Organism Människan

Tissue Endocervix

Disease Adenocarcinom

Metastatic site Primärtumörens lokalisering (endocervix)

Applications Biologi kring kärnporkomplexets (NPC) stödstruktur; avbildning av nukleoporinet NUP205 i stödstrukturen; visualisering av mEGFP i levande celler; superupplösningsmikroskopi; validering av CRISPR-knock-in; transport mellan kärna och cytoplasma; NPC:s strukturella organisation

Synonyms HK-CRISPR-NUP205-mEGFP #81

Egenskaper

Age 30 år

Gender Kvinna

Ethnicity Afroamerikan

Morphology Epitelliknande celler med mosaikstensform

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-celler | 301574

Cell type Epiteliala celler

Growth properties Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation HK-CRISPR-NUP205-mEGFP (Cytion katalognummer 301574)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_UR49

Depositor Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Denna HeLa Kyoto-linje innehåller en CRISPR-konstruerad mEGFP-fusion vid NUP205-locus för forskning om kärnporer på byggnadsställningsnivå. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.

Biomolekylära data

Products EGFP (förstärkt grönt fluorescerande protein)

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.

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-celler | 301574**Split ratio** Ett förhållande på 1:3 rekommenderas**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka**Freeze medium** Som kryokonserveringsmedium 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.**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 °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 °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 flödeskuv 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 x 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-kulturkolv; 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°C, 5%_{CO2}, befuktad atmosfär.**Flask Coating** Ingen

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP-celler | 301574

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

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.