

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

Allmän information

Description

HK-CRISPR-mEGFP-Nup358-cellinjen är ett genetiskt modifierat derivat av HeLa Kyoto-celler, kända för sin robusthet och utbredda användning inom vetenskaplig forskning. Denna cellinje har modifierats med hjälp av CRISPR-Cas9-teknik för att uttrycka mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) märkt Nup358, en viktig komponent i kärnporkomplexet (NPC). Nup358, även känd som RanBP2, spelar en viktig roll i nukleocytoplasmisk transport, mitotisk spindelmontering och andra cellulära processer. MEGFP-taggen möjliggör visualisering av Nup358, vilket underlättar observation i realtid av dess dynamik och interaktioner i cellen.

HeLa Kyoto-celler, en sublinje av de ursprungliga HeLa-cellerna, kännetecknas av sin anpassningsförmåga och stabila tillväxt i odling. CRISPR-Cas9-systemet i denna cellinje möjliggör exakt genomisk redigering, vilket säkerställer att mEGFP-märkningen är korrekt fusionerad till Nup358-proteinet utan att störa dess funktion. Detta gör HK-CRISPR-mEGFP-Nup358-cellinjen till ett värdefullt verktyg för att studera de strukturella och funktionella aspekterna av kärnporkomplexet. Forskare kan använda denna cellinje för att få insikter i de mekanismer som styr nukleocytoplasmisk transport och Nup358:s roll i cellulär homeostas och sjukdomstillstånd, såsom cancer och virusinfektioner.

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-mEGFP-Nup358 (Cytion katalognummer 301575)

Biosafety level 1

HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358-celler | 301575**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FS**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Denna HeLa Kyoto-linje innehåller en CRISPR-integrerad mEGFP tagg vid RanBP2/Nup358 locus, vilket möjliggör visualisering av cytoplasmatiska filament i kärnporen. 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.**Split ratio** Ett förhållande på 1:3 rekommenderas**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka**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-mEGFP-RanBP2/Nup358-celler | 301575

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-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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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-mEGFP-RanBP2/Nup358-celler | 301575

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.