

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP celice | 301574

Splošne informacije

Description

Celična linija HK-CRISPR-NUP205-mEGFP je gensko spremenjena človeška celična linija, namenjena preučevanju nukleoporina 205 (NUP205) in njegove vloge v kompleksu jedrnih por. Modificirana s CRISPR-Cas9 za označevanje NUP205 z monomernim izboljšanim zelenim fluorescenčnim proteinom (mEGFP) omogoča vizualizacijo in sledenje NUP205 v živih celicah, kar pomaga pri raziskavah mehanizmov jedrskega transporta in dinamike kompleksa jedrskih por.

NUP205 je ključna sestavina kompleksa jedrskih por, ki uravnava prenos molekul med jedrom in citoplazmo. Označitev NUP205 z mEGFP raziskovalcem omogoča, da pod fluorescenčnim mikroskopom v realnem času opazujejo njegovo lokalizacijo in obnašanje, zato je ta celična linija še posebej uporabna za preučevanje strukturnih in funkcionalnih vidikov kompleksov jedrskih por ter njihove vloge pri izražanju genov, obdelavi RNA in celičnem ciklu.

Celična linija HK-CRISPR-NUP205-mEGFP je učinkovito orodje za raziskovanje mehanizmov nukleocitoplazmatskega transporta in vloge kompleksa jedrnih por v celični homeostazi. Prav tako je dragocena za raziskovanje, kako motnje v delovanju jedrskih por prispevajo k boleznim, kot so rak in nevrodegenerativne motnje, ter ponuja zanesljiv model za izboljšanje našega razumevanja jedrskega transporta in njegovih posledic za zdravje ljudi.

Organism Človek

Tissue Endocervix

Disease Adenokarcinom

Metastatic site Lokacija primarnega tumorja (endocerviks)

Applications Biologija ogrodja jedrskega porednega kompleksa (NPC); slikanje nukleoporinov ogrodja NUP205; vizualizacija živih celic z mEGFP; mikroskopija s superrazločljivostjo; validacija knock-in z metodo CRISPR; jedrsko-citoplazemski transport; strukturna organizacija NPC

Synonyms HK-CRISPR-NUP205-mEGFP #81

Značilnosti

Age 30 let

Gender Ženske

Ethnicity Afroameričan

Morphology Epitelnim celicam podobne celice z obliko mozaičnih kamenčkov

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP celice | 301574**Cell type** Epitelijske celice**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** HK-CRISPR-NUP205-mEGFP (kataloška številka Cytion 301574)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR49**Depositor** Laboratorij Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ta linija HeLa Kyoto vsebuje z inženiringom CRISPR ustvarjeno fuzijo mEGFP na lokusu NUP205 za raziskave jedrskih por na ravni ogrodja. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.**Biomolekularni podatki****Products** EGFP (okrepljeni zeleni fluorescenčni protein)**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP celice | 301574**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Freeze medium**

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.**Flask Coating**

Nič

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP celice | 301574

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.