

Клітини НК-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія НК-CRISPR-NUP205-mEGFP - це генно-інженерна лінія клітин людини, призначена для вивчення нуклеопорину 205 (NUP205) та його ролі в комплексі ядерних пор. Модифікована за допомогою CRISPR-Cas9 для мічення NUP205 мономерним посиленням зеленим флуоресцентним білком (mEGFP), вона дозволяє візуалізувати та відстежувати NUP205 в живих клітинах, що сприяє дослідженню механізмів ядерного транспорту та динаміки ядерно-порового комплексу.

NUP205 є критично важливим компонентом ядерно-порового комплексу, який регулює транспорт молекул між ядром і цитоплазмою. Мічення NUP205 за допомогою mEGFP дозволяє дослідникам спостерігати його локалізацію та поведінку в режимі реального часу під флуоресцентним мікроскопом, що робить цю клітинну лінію особливо корисною для вивчення структурних і функціональних аспектів ядерно-порових комплексів та їхньої ролі в експресії генів, процесингу РНК і клітинному циклі.

Клітинна лінія НК-CRISPR-NUP205-mEGFP є потужним інструментом для дослідження механізмів нуклеоцитоплазматичного транспорту та ролі комплексу ядерних пор у клітинному гомеостазі. Вона також цінна для вивчення того, як порушення функції ядерних пор сприяють розвитку таких захворювань, як рак і нейродегенеративні розлади, пропонуючи надійну модель для поглиблення нашого розуміння ядерного транспорту та його наслідків для здоров'я людини.

Organism	Людина
Tissue	Ендоцervікс
Disease	Аденокарцинома
Synonyms	НК-CRISPR-NUP205-mEGFP #81

Характеристики

Age	30 років
Gender	Жінка
Ethnicity	Афроамериканець
Morphology	Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Клітини НК-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Citation	НК-CRISPR-NUP205-mEGFP (номер за каталогом Cytion 301574)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_UR49
Depositor	Лабораторія Елленберга (EMBL)
GMO Status	ГМО-S1: Ця лінія HeLa Kyoto містить злиття mEGFP за допомогою CRISPR-інженерії в локусі NUP205 для дослідження ядерних пор на рівні скафолду. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятись в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Products	EGFP (розширений зелений флуоресцентний білок)
-----------------	--

Обробка

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO ₃ , w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Freeze medium	Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини НК-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини НК-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.