

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 кріовіал 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, зануливши 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 кріовіал 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

Ні

**Freezing
Procedure**

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.

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.