

Células HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574**Informações gerais****Description**

A linhagem celular HK-CRISPR-NUP205-mEGFP é uma linhagem celular humana geneticamente modificada, projetada para estudar a nucleoporina 205 (NUP205) e seu papel no complexo de poros nucleares. Modificada com CRISPR-Cas9 para marcar a NUP205 com a proteína fluorescente verde aprimorada monomérica (mEGFP), ela permite a visualização e o rastreamento da NUP205 em células vivas, auxiliando na pesquisa sobre os mecanismos de transporte nuclear e a dinâmica do complexo de poros nucleares.

A NUP205 é um componente essencial do complexo de poros nucleares, regulando o transporte de moléculas entre o núcleo e o citoplasma. A marcação do NUP205 com mEGFP permite que os pesquisadores observem sua localização e comportamento em tempo real sob um microscópio de fluorescência, tornando essa linhagem celular particularmente útil para o estudo dos aspectos estruturais e funcionais dos complexos de poros nucleares e de seus papéis na expressão gênica, no processamento de RNA e no ciclo celular.

A linhagem celular HK-CRISPR-NUP205-mEGFP é uma ferramenta poderosa para investigar os mecanismos de transporte nucleocitoplasmático e o papel do complexo de poros nucleares na homeostase celular. Ela também é valiosa para explorar como perturbações na função dos poros nucleares contribuem para doenças como o câncer e distúrbios neurodegenerativos, oferecendo um modelo robusto para aprofundar nossa compreensão do transporte nuclear e suas implicações para a saúde humana.

Organism Humano**Tissue** Endocérvix**Disease** Adenocarcinoma**Metastatic site** Localização do tumor primário (endocérvix)**Applications** Biologia da estrutura do complexo de poros nucleares (NPC); imagem da nucleoporina NUP205 na estrutura do NPC; visualização de células vivas com mEGFP; microscopia de super-resolução; validação de knock-in por CRISPR; transporte nucleocitoplasmático; organização estrutural do NPC**Synonyms** HK-CRISPR-NUP205-mEGFP #81**Características****Age** 30 anos**Gender** Mulher**Ethnicity** afro-americano**Morphology** Células de tipo epitelial com formato de pedra em mosaico

Células HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574**Cell type** Células epiteliais**Growth properties** Aderente**Dados regulatórios****Citation** HK-CRISPR-NUP205-mEGFP (número de catálogo da Cytion 301574)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR49**Depositor** Laboratório Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Esta linhagem HeLa Kyoto contém uma fusão de mEGFP modificada por CRISPR no locus NUP205 para pesquisas sobre poros nucleares no nível da estrutura de suporte. Essa classificação se aplica apenas na Alemanha e pode variar em outros países.**Dados biomoleculares****Products** EGFP (Proteína Fluorescente Verde Aprimorada)**Manuseio****Culture Medium** DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO₃, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)**Supplements** Adicione 10% de FBS ao meio**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

Células HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Células HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.