

Tế bào HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574**Thông tin chung****Description**

Dòng tế bào HK-CRISPR-NUP205-mEGFP là một dòng tế bào người được biến đổi gen nhằm nghiên cứu nucleoporin 205 (NUP205) và vai trò của nó trong phức hợp lỗ nhân. Được sửa đổi bằng CRISPR-Cas9 để gắn NUP205 với protein huỳnh quang xanh lá cây tăng cường dạng đơn phân (mEGFP), dòng tế bào này cho phép quan sát và theo dõi NUP205 trong tế bào sống, hỗ trợ nghiên cứu về cơ chế vận chuyển nhân và động học của phức hợp lỗ nhân.

NUP205 là thành phần quan trọng của phức hợp lỗ nhân, điều chỉnh vận chuyển phân tử giữa nhân và chất tế bào. Việc gắn mEGFP cho phép các nhà nghiên cứu quan sát vị trí và hành vi của nó theo thời gian thực dưới kính hiển vi huỳnh quang, làm cho dòng tế bào này đặc biệt hữu ích trong việc nghiên cứu các khía cạnh cấu trúc và chức năng của phức hợp lỗ nhân cũng như vai trò của chúng trong biểu hiện gen, xử lý RNA và chu kỳ tế bào.

Dòng tế bào HK-CRISPR-NUP205-mEGFP là công cụ mạnh mẽ để nghiên cứu các cơ chế vận chuyển nhân-chất tế bào và vai trò của phức hợp lỗ nhân trong sự cân bằng nội môi tế bào. Nó cũng có giá trị trong việc khám phá cách các rối loạn chức năng của phức hợp lỗ nhân góp phần vào các bệnh như ung thư và rối loạn thoái hóa thần kinh, cung cấp một mô hình mạnh mẽ để nâng cao hiểu biết của chúng ta về vận chuyển nhân và tác động của nó đối với sức khỏe con người.

Organism

Con người

Tissue

Nội cổ tử cung

Disease

Ung thư biểu mô tuyến

Metastatic site

Vị trí khối u nguyên phát (nội cổ tử cung)

Applications

Sinh học khung cấu trúc của phức hợp lỗ nhân (NPC); Chụp ảnh nucleoporin thuộc khung cấu trúc NUP205; Quan sát tế bào sống bằng mEGFP; Kính hiển vi siêu phân giải; Xác nhận phương pháp knock-in bằng CRISPR; Vận chuyển giữa nhân và tế bào chất; Cấu trúc tổ chức của NPC

Synonyms

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP #81

Đặc điểm**Age**

30 năm

Gender

Nữ

Ethnicity

Người Mỹ gốc Phi

Morphology

Tế bào có hình dạng giống biểu mô với cấu trúc dạng đá mozaic

Tế bào HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574**Cell type** Tế bào biểu mô**Growth properties** Người tuân thủ**Dữ liệu quy định****Citation** HK-CRISPR-NUP205-mEGFP (Số catalog của Cytion: 301574)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR49**Depositor** Phòng thí nghiệm Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Dòng tế bào HeLa Kyoto này chứa một protein liên hợp mEGFP được chỉnh sửa bằng CRISPR tại vị trí NUP205, phục vụ cho nghiên cứu về lỗi hạt nhân ở cấp độ khung. Phân loại này chỉ áp dụng trong phạm vi Đức và có thể khác nhau ở các khu vực khác.**Dữ liệu sinh học phân tử****Products** EGFP (Protein huỳnh quang xanh lá cây tăng cường)**Xử lý****Culture Medium** DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L NaHCO₃, chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)**Supplements** Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.

Tế bào HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574**Fluid renewal** 2 đến 3 lần mỗi tuần**Freeze medium** Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.**Thawing and
Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở $300 \times g$ trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation
Atmosphere** 37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.**Flask Coating** Không có

Tế bào HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Freezing Procedure

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196°C . Việc bảo quản ở -80°C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.