HK-CRISPR-mEGFP-Nup358

301575

INFORMACIÓN GENERAL

Descripción

La línea celular HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 es un derivado genéticamente modificado de las células HeLa de Kioto, conocidas por su robustez y amplio uso en la investigación científica. Esta línea celular ha sido modificada utilizando la tecnología CRISPR-Cas9 para expresar mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) marcada con Nup358, un componente crucial del complejo del poro nuclear (NPC). Nup358, también conocido como RanBP2, desempeña un papel importante en el transporte nucleocitoplasmático, el ensamblaje del huso mitótico y otros procesos celulares. La etiqueta mEGFP permite la visualización de Nup358, facilitando la observación en tiempo real de su dinámica e interacciones dentro de la célula.
Las células HeLa Kyoto, una sublínea de las células HeLa originales, se caracterizan por su adaptabilidad y crecimiento estable en cultivo. El sistema CRISPR-Cas9 de esta línea celular permite una edición genómica precisa, garantizando que la etiqueta mEGFP se fusione con precisión a la proteína Nup358 sin alterar su función. Esto convierte a la línea celular HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 en una valiosa herramienta para estudiar los aspectos estructurales y funcionales del complejo del poro nuclear. Los investigadores pueden utilizar esta línea celular para comprender mejor los mecanismos que rigen el transporte nucleocitoplasmático y el papel de Nup358 en la homeostasis celular y en estados patológicos como el cáncer y las infecciones víricas.

Pañuelo de papel	Endocervix
Enfermedad	Adenocarcinoma

CLASIFICACIÓN

Organismo	Humano
Sexo	Mujer
Propiedades de crecimiento	Adherente
Situación respecto a los OMG	GMO-S1

Detalles sobre la presencia de OMG

GMO-S1: This HeLa Kyoto line contains a CRISPR-integrated mEGFP tag at the RanBP2/Nup358 locus, enabling visualization of cytoplasmic filaments of the nuclear pore. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Nivel de bioseguridad	1

CARACTERÍSTICAS

Morfología	Células de aspecto epitelial con forma de piedra en mosaico

IDENTIFICADORES

Referencia

HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 (número de catálogo de Cytion 301575)

N.º de identificación fiscal del NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FS
Depositario	Laboratorio Ellenberg (EMBL)

EXPRESIÓN Y SUSCEPTIBILIDAD

Productos

EGFP (proteína fluorescente verde mejorada)

MANEJO Y CULTIVO

Medio de cultivo

DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO3, w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)

Atmósfera de incubación	37°C, 5%CO2, atmósfera humidificada.

Suplementos

Complementar el medio con un 10% de FBS

Reactivo de disociación	Accutase

Subcultivo

Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.

Renovación de fluidos	de 2 a 3 veces por semana

Descongelación y cultivo

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

CONTROL DE CALIDAD Y CRIOPRESERVACIÓN

Esterilidad

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.
Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

Medio de congelación	Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Condiciones de almacenamiento

Para la conservación a largo plazo, colocar los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Condiciones de envío

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

DONANTE

Edad del donante	30 años
Origen étnico	Afroamericanos

ASPECTOS LEGALES Y DE SEGURIDAD

Medidas de seguridad

Cuando se planea almacenar un criovial en nitrógeno líquido para su futura descongelación, es obligatorio cumplir estrictas medidas de seguridad. Es esencial utilizar guantes y ropa de protección adecuados, así como una mascarilla o gafas de seguridad durante el traslado de muestras congeladas desde o hacia el tanque de nitrógeno líquido. Con ello se pretende mitigar el riesgo de lesiones por posibles explosiones crioviales al extraerlas, que pueden dar lugar a la proyección de fragmentos afilados.

Garantía

En Cytion, respaldamos la calidad y viabilidad de nuestros productos.
Garantizamos que nuestras células serán viables al inicio del cultivo durante los 60 días posteriores al envío desde nuestras instalaciones.
Aseguramos que todos los materiales se ajustan a las especificaciones descritas en el Certificado de Análisis y/o Hoja de Producto
Para más información, consulte nuestra <a href=""/Quiénes somos/Garantía/"" hreflang=""x-default"">Declaración de garantía

Se aplican los acuerdos con terceros	Yes