

## Клетки НК-CRISPR-Nup62-mEGFP | 300659

## Обща информация

## Description

Клетъчната линия НК-CRISPR-Nup62-mEGFP е човешки клетъчен модел с ген Nup62, маркиран с мономерен усилен зелен флуоресцентен протеин (mEGFP). Тази модификация позволява визуализиране в реално време на Nup62 в рамките на ядрената обвивка, което подпомага изследванията на ядрения транспорт, сглобяването на NPC и динамиката. Прецизното редактиране на генома е постигнато с помощта на технологията CRISPR-Cas9, което го прави надежден модел за изследване на ролята на Nup62 в клетъчните процеси.

Тази клетъчна линия е ценна за изследвания в областта на нуклеоцитоплазмения транспорт, регулацията на клетъчния цикъл и ядрената архитектура. Флуоресцентното маркиране на Nup62 дава възможност за получаване на изображения с висока разделителна способност и проследяване на живи клетки, което улеснява флуоресцентната микроскопия и други техники за получаване на изображения. Изследователите могат да проучат молекулярните механизми на ядрено-цитоплазмения обмен и ролята на Nup62 при заболявания като рак и невродегенеративни разстройства.

**Organism** Човек

**Tissue** Ендоцervикс

**Disease** Аденокарцином

## Характеристики

**Age** 30 години

**Gender** Жена

**Ethnicity** Афроамериканец

**Morphology** Епителиални клетки с форма на мозаечно камъче

**Growth properties** Придържачи се

## Регулаторни данни

**Citation** НК-CRISPR-Nup62-mEGFP (каталожен номер 300659 на Cytion)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

## Клетки НК-CRISPR-Nup62-mEGFP | 300659

**Depositor** Лабораторията на Елнбърг (EMBL)

**GMO Status** GMO-S1: Тази линия HeLa Kyoto съдържа Nup62, маркиран с mEGFP, генериран чрез CRISPR, което позволява визуализиране на компонентите на централния канал на ядрената пора. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

## Биомолекулярни данни

**Protein expression** Nup62, mEGFP-таг

## Работа с

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)

**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

**Клетки НК-CRISPR-Nup62-mEGFP | 300659****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

**Flask Coating**

Няма

**Freezing  
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

## Клетки НК-CRISPR-Nup62-mEGFP | 300659

### Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

### Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около  $-150$  до  $-196^{\circ}\text{C}$ . Съхранението при  $-80^{\circ}\text{C}$  е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

## Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

### Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.