

Buňky HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655**Obecné informace****Description**

Buněčná linie HK-CRISPR-Nup93-mEGFP je odvozena z buněk Hela Kyoto a upravena pomocí technologie CRISPR/Cas9 tak, aby exprimovala Nup93 spojenou s monomerním zvýšeným zeleným fluorescenčním proteinem (mEGFP). To umožňuje vizualizaci Nup93 v jaderném obalu v reálném čase, což napomáhá studiu jaderně-cytoplazmatického transportu, sestavení komplexu jaderných pórů a integrity jaderného obalu.

Nup93 má zásadní význam pro udržení architektury a funkce komplexu jaderných pórů. Značka mEGFP umožňuje sledovat jeho dynamiku a interakce, což usnadňuje zobrazovací techniky s vysokým rozlišením, jako je konfokální mikroskopie. Tato buněčná linie pomáhá výzkumníkům porozumět genové regulaci, nukleocytoplazmatickému přenosu a reakcím buněk na stres.

Buněčná linie HK-CRISPR-Nup93-mEGFP je cenným zdrojem pro studium buněčné biologie a onemocnění spojených s komplexem jaderných pórů, což přispívá k potenciálním terapeutickým strategiím zaměřeným na jaderné transportní dráhy. Je obzvláště užitečná pro zkoumání úlohy jaderného obalu v buněčných funkcích a patologii.

Organism Člověk**Tissue** Endocervix**Disease** Adenokarcinom**Charakteristika****Age** 30 let**Gender** Ženy**Ethnicity** Afroameričan**Morphology** Buňky podobné epitelu s mozaikovitým tvarem kamínků**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje****Citation** HK-CRISPR-Nup93-mEGFP (katalogové číslo Cytion 300655)**Biosafety level** 1

Buňky HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655**NCBI_TaxID** 9606**Depositor** Ellenbergova laboratoř (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Tato linie HeLa Kyoto obsahuje mEGFP knock-in v endogenním lokusu Nup93 pro studium struktury jaderných pórů. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.**Biomolekulární data****Protein expression** Nup153, mEGFP-tag**Zpracování****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujete.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálnímu kontrolám.