

Buňky HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574**Obecné informace****Description**

Buněčná linie HK-CRISPR-NUP205-mEGFP je geneticky upravená lidská buněčná linie určená ke studiu nukleoporinu 205 (NUP205) a jeho role v komplexu jaderných pórů. Modifikovaná pomocí CRISPR-Cas9 tak, aby označovala NUP205 monomerním zvýšeným zeleným fluorescenčním proteinem (mEGFP), umožňuje vizualizaci a sledování NUP205 v živých buňkách, což napomáhá výzkumu mechanismů jaderného transportu a dynamiky komplexu jaderných pórů.

NUP205 je kritickou složkou komplexu jaderných pórů, která reguluje transport molekul mezi jádrem a cytoplazmou. Označení NUP205 pomocí mEGFP umožňuje výzkumníkům sledovat jeho lokalizaci a chování v reálném čase pod fluorescenčním mikroskopem, díky čemuž je tato buněčná linie obzvláště užitečná pro studium strukturálních a funkčních aspektů komplexů jaderných pórů a jejich role v genové expresi, zpracování RNA a buněčném cyklu.

Buněčná linie HK-CRISPR-NUP205-mEGFP je výkonným nástrojem pro zkoumání mechanismů nukleocytoplazmatického transportu a úlohy komplexu jaderných pórů v buněčné homeostáze. Je také cenná pro zkoumání toho, jak narušení funkce jaderných pórů přispívá k nemocem, jako je rakovina a neurodegenerativní poruchy, a nabízí spolehlivý model pro zlepšení našeho chápání jaderného transportu a jeho důsledků pro lidské zdraví.

Organism Člověk**Tissue** Endocervix**Disease** Adenokarcinom**Synonyms** HK-CRISPR-NUP205-mEGFP #81**Charakteristika****Age** 30 let**Gender** Ženy**Ethnicity** Afroameričan**Morphology** Buňky podobné epitelu s mozaikovitým tvarem kamínků**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje**

Buňky HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Citation	HK-CRISPR-NUP205-mEGFP (katalogové číslo Cytion 301574)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_UR49
Depositor	Ellenbergova laboratoř (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Tato linie HeLa Kyoto obsahuje fúzi mEGFP vytvořenou pomocí CRISPR v lokusu NUP205 pro výzkum jaderných pórů na úrovni skeletu. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Products	EGFP (zesílený zelený fluorescenční protein)
-----------------	--

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčičku. 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.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:3
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
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-NUP205-mEGFP | 301574

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 odstřeďte při $300 \times g$ po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

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.

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 / Genetický profil / HLA

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 vizuálním kontrolám.