

## HK-CRISPR-NUP205-mEGFP sejtek | 301574

## Általános információk

## Description

A HK-CRISPR-NUP205-mEGFP sejt vonal egy genetikailag módosított emberi sejt vonal, amelyet a nukleoporin 205 (NUP205) és a nukleáris pórus komplexben betöltött szerepének tanulmányozására terveztek. A CRISPR-Cas9-cel módosított, a NUP205 monomerikus, fokozottan zöld fluoreszcens fehérjével (mEGFP) való megjelölése érdekében lehetővé teszi a NUP205 vizualizálását és nyomon követését élő sejtekben, segítve a nukleáris transzportmechanizmusok és a nukleáris pórus komplex dinamikájának kutatását.

A NUP205 a nukleáris pórus komplex kritikus összetevője, amely szabályozza a molekulák sejt mag és citoplazma közötti szállítását. A NUP205 mEGFP-vel való megjelölése lehetővé teszi a kutatók számára, hogy valós időben, fluoreszcens mikroszkóp alatt megfigyeljék lokalizációját és viselkedését, így ez a sejt vonal különösen hasznos a nukleáris pórus komplexek szerkezeti és funkcionális aspektusainak, valamint a génexpresszióban, az RNS-feldolgozásban és a sejt ciklusban betöltött szerepüknek a tanulmányozására.

A HK-CRISPR-NUP205-mEGFP sejt vonal hatékony eszköz a nukleocitoplazmatikus transzportmechanizmusok és a nukleáris póruskomplex sejt homeosztázisban betöltött szerepének vizsgálatára. Értékes annak feltárására is, hogy a nukleáris pórus működésében bekövetkező zavarok hogyan járulnak hozzá olyan betegségekhez, mint a rák és a neurodegeneratív rendellenességek, és megbízható modellt kínál a nukleáris transzport és annak az emberi egészségre gyakorolt hatásainak megértéséhez.

**Organism** Emberi

**Tissue** Endocervix

**Disease** Adenokarcinóma

**Metastatic site** Az elsődleges daganat helye (endocervix)

**Applications** A nukleáris póruskomplex (NPC) vázszerkezetének biológiája; a NUP205 vázszerkezetű nukleoporinok képzőképzése; mEGFP-vel történő élősejt-vizualizáció; szuperfelbontású mikroszkópia; CRISPR-knock-in validáció; nukleocitoplazmatikus transzport; az NPC szerkezeti felépítése

**Synonyms** HK-CRISPR-NUP205-mEGFP #81

## Jellemzők

**Age** 30 év

**Gender** Női

**Ethnicity** Afroamerikai

**Morphology** Epithelszerű, mozaikos kő alakú sejtek

## HK-CRISPR-NUP205-mEGFP sejtek | 301574

**Cell type** Epithel sejtek**Growth properties** Adherent

## Szabályozási adatok

**Citation** HK-CRISPR-NUP205-mEGFP (Cytion katalógusszám 301574)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_UR49**Depositor** Az Ellenberg Labor (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ez a HeLa Kiotói vonal a NUP205 lokuszon egy CRISPR által módosított mEGFP fúziót tartalmaz a nukleáris pórus kutatásához. Ez az osztályozás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.

## Biomolekuláris adatok

**Products** EGFP (Fokozott zöld fluoreszcens fehérje)

## A kezelése

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

**HK-CRISPR-NUP205-mEGFP sejtek | 301574****Fluid renewal**      hetente 2-3 alkalommal**Freeze medium**

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítjük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation Atmosphere** $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.**Flask Coating**

Nincs

## HK-CRISPR-NUP205-mEGFP sejtek | 301574

### Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

### Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül  $-150$  és  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  közötti hőmérsékleten. A  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.