

## HK-CRISPR-Nup93-mEGFP šūnas | 300655

## Vispārīga informācija

## Description

HK-CRISPR-Nup93-mEGFP šūnu līnija ir iegūta no Hela Kyoto šūnām un izveidota, izmantojot CRISPR/Cas9 tehnoloģiju, lai ekspresētu Nup93, kas saplūst ar monomēru pastiprinātu zaļo fluorescējošo proteīnu (mEGFP). Tas ļauj reāllaikā vizualizēt Nup93 kodola apvalkā, palīdzot pētīt kodola-citoplazmas transportu, kodola poru kompleksa montāžu un kodola apvalka integritāti.

Nup93 ir ļoti svarīgs kodola poru kompleksa arhitektūras un funkcijas uzturēšanai. MEGFP marķējums ļauj izsekot tā dinamiku un mijiedarbību, atvieglojot augstas izšķirtspējas attēlveidošanas metodes, piemēram, konfokālo mikroskopiju. Šī šūnu līnija palīdz pētniekiem izprast gēnu regulāciju, nukleoplazmas apriti un šūnu reakcijas uz stresu.

HK-CRISPR-Nup93-mEGFP šūnu līnija ir vērtīgs resurss šūnu bioloģijas un ar kodola poru kompleksu saistītu slimību izpētei, veicinot potenciālās terapeitiskās stratēģijas, kas vērstas uz kodola transporta ceļiem. Tā ir īpaši noderīga, lai izpētītu kodola apvalka lomu šūnu funkcijās un patoloģijā.

**Organism** Cilvēks

**Tissue** Endocervix

**Disease** Adenokarcinoma

## Raksturojums

**Age** 30 gadi

**Gender** Sievietes

**Ethnicity** Afroamerikānis

**Morphology** Epitēlijveidīgas šūnas ar mozaikveida akmens formu

**Growth properties** Adherent

## Normatīvie dati

**Citation** HK-CRISPR-Nup93-mEGFP (Cytion kataloga numurs 300655)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

## HK-CRISPR-Nup93-mEGFP šūnas | 300655

**Depositor** Ellenberga laboratorija (EMBL)

**GMO Status** GMO-S1: Šī HeLa Kyoto līnija satur mEGFP knock-in endogēnajā Nup93 lokusā kodola poru struktūras pētījumiem. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

**Biomolekulārie dati**

**Protein expression** Nup153, mEGFP-tag

**Darbs ar**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanu un samazinātu krioinducēto stresu.

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

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation  
Atmosphere**37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing  
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

## HK-CRISPR-Nup93-mEGFP šūnas | 300655

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.