

Komórki HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa HK-CRISPR-NUP205-mEGFP to genetycznie zmodyfikowana ludzka linia komórkowa zaprojektowana do badania nukleoporyny 205 (NUP205) i jej roli w kompleksie porów jądrowych. Zmodyfikowana za pomocą CRISPR-Cas9 w celu znakowania NUP205 monomerycznym wzmocnionym zielonym białkiem fluorescencyjnym (mEGFP), umożliwia wizualizację i śledzenie NUP205 w żywych komórkach, wspomagając badania nad mechanizmami transportu jądrowego i dynamiką kompleksu porów jądrowych.

NUP205 jest krytycznym składnikiem kompleksu porów jądrowych, regulującym transport cząsteczek między jądrem a cytoplazmą. Znakowanie NUP205 za pomocą mEGFP pozwala naukowcom obserwować jego lokalizację i zachowanie w czasie rzeczywistym pod mikroskopem fluorescencyjnym, dzięki czemu ta linia komórkowa jest szczególnie przydatna do badania strukturalnych i funkcjonalnych aspektów kompleksów porów jądrowych oraz ich roli w ekspresji genów, przetwarzaniu RNA i cyklu komórkowym.

Linia komórkowa HK-CRISPR-NUP205-mEGFP jest potężnym narzędziem do badania mechanizmów transportu nukleocytoplazmatycznego i roli kompleksu porów jądrowych w homeostazie komórkowej. Jest również cenna do badania, w jaki sposób zakłócenia w funkcjonowaniu porów jądrowych przyczyniają się do chorób takich jak rak i zaburzenia neurodegeneracyjne, oferując solidny model do lepszego zrozumienia transportu jądrowego i jego wpływu na zdrowie ludzi.

Organism Człowiek**Tissue** Szyjka macicy**Disease** Gruczolakorak**Synonyms** HK-CRISPR-NUP205-mEGFP #81**Charakterystyka****Age** 30 lat**Gender** Kobieta**Ethnicity** Afroamerykanin**Morphology** Komórki podobne do nabłonka o mozaikowym kształcie kamienia**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne**

Komórki HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Citation	HK-CRISPR-NUP205-mEGFP (numer katalogowy Cytion 301574)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_UR49
Depositor	Laboratorium Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Ta linia HeLa Kyoto zawiera zmodyfikowaną metodą CRISPR fuzję mEGFP w locus NUP205 do badań porów jądrowych na poziomie rusztowania. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może różnić się w innych krajach.

Dane biomolekularne

Products	EGFP (wzmocnione zielone białko fluorescencyjne)
-----------------	--

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecany jest stosunek 1:3
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.