

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**Metastatic site** Miejsce występowania guza pierwotnego (wewnętrzna część szyjki macicy)**Applications** Biologia szkieletu kompleksu porów jądrowych (NPC); obrazowanie nukleoporin szkieletu NUP205; wizualizacja żywych komórek za pomocą mEGFP; mikroskopia superrozdzielcza; walidacja knock-in za pomocą CRISPR; transport jądro-cytoplazmatyczny; organizacja strukturalna NPC**Synonyms** HK-CRISPR-NUP205-mEGFP #81**Charakterystyka****Age** 30 lat**Gender** Kobieta**Ethnicity** Afroamerykanin**Morphology** Komórki podobne do nabłonka o mozaikowym kształcie kamienia

Komórki HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574**Cell type** Komórki nabłonkowe**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****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 NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzpełnić 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. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Komórki HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574**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.**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 otwórz zdezynfekowaną fiolkę i przenieś 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** Brak

Komórki HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki 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 wykluczone 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.