

**Bunky HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574****Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia HK-CRISPR-NUP205-mEGFP je geneticky upravená ľudská bunková línia určená na štúdium nukleoporínu 205 (NUP205) a jeho úlohy v komplexe jadrových pórov. Modifikovaná pomocou CRISPR-Cas9 na označenie NUP205 monomérom zeleným fluorescenčným proteínom (mEGFP) umožňuje vizualizáciu a sledovanie NUP205 v živých bunkách, čo pomáha pri výskume mechanizmov jadrového transportu a dynamiky komplexu jadrových pórov.

NUP205 je kritickou zložkou komplexu jadrových pórov, ktorá reguluje transport molekúl medzi jadrom a cytoplazmou. Označenie NUP205 pomocou mEGFP umožňuje výskumníkom pozorovať jeho lokalizáciu a správanie v reálnom čase pod fluorescenčným mikroskopom, vďaka čomu je táto bunková línia obzvlášť užitočná na štúdium štrukturálnych a funkčných aspektov komplexov jadrových pórov a ich úlohu v expresii génov, spracovaní RNA a bunkovom cykle.

Bunková línia HK-CRISPR-NUP205-mEGFP je výkonným nástrojom na skúmanie mechanizmov nukleocytoplazmatického transportu a úlohy komplexu jadrových pórov v bunkovej homeostáze. Je tiež cenná na skúmanie toho, ako narušenie funkcie jadrových pórov prispieva k chorobám, ako je rakovina a neurodegeneratívne poruchy, a ponúka spoľahlivý model na zlepšenie nášho chápania jadrového transportu a jeho dôsledkov pre ľudské zdravie.

**Organism**      Ľudské**Tissue**            Endocervix**Disease**            Adenokarcinóm**Metastatic site**    Miesto primárneho nádoru (endocervix)**Applications**    Biológia kostry komplexu jadrových pórov (NPC); zobrazovanie nukleoporínov kostry NUP205; vizualizácia živých buniek pomocou mEGFP; mikroskopia so superrozlíšením; validácia knock-in metódy CRISPR; transport medzi jadrom a cytoplazmou; štrukturálna organizácia NPC**Synonyms**        HK-CRISPR-NUP205-mEGFP #81**Charakteristika****Age**                 30 rokov**Gender**            Ženy**Ethnicity**         Afroameričan**Morphology**      Epitelové bunky s mozaikovým tvarom kameňa

**Bunky HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574****Cell type** Epitelové bunky**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** HK-CRISPR-NUP205-mEGFP (katalógové číslo Cytion 301574)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_UR49**Depositor** Ellenbergova laboratória (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Táto línia HeLa Kyoto obsahuje fúziu mEGFP vytvorenú pomocou CRISPR v lokuse NUP205 na výskum jadrových pórov na úrovni skeletu. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.**Biomolekulárne údaje****Products** EGFP (zosilnený zelený fluorescenčný proteín)**Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výroby Cytion 820300a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

**Bunky HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574****Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium**

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation Atmosphere**37 °C, 5 %<sub>CO2</sub>, zvlhčená atmosféra.**Flask Coating**

Žiadne

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

### Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.