

## HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 bunky | 301575

## Všeobecné informácie

## Description

Bunková línia HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 je geneticky upravený derivát buniek HeLa Kyoto, ktoré sú známe svojou odolnosťou a širokým využitím vo vedeckom výskume. Táto bunková línia bola modifikovaná pomocou technológie CRISPR-Cas9 tak, aby exprimovala mEGFP (monomerný vylepšený zelený fluorescenčný proteín) označený Nup358, ktorý je kľúčovou zložkou komplexu jadrových pórov (NPC). Nup358, známy aj ako RanBP2, zohráva významnú úlohu pri nukleocytoplazmatickom transporte, zostavovaní mitotického vretienka a ďalších bunkových procesoch. Značka mEGFP umožňuje vizualizáciu Nup358, čo uľahčuje pozorovanie jeho dynamiky a interakcií v bunke v reálnom čase.

Bunky HeLa Kyoto, sublínia pôvodných buniek HeLa, sa vyznačujú prispôbivosťou a stabilným rastom v kultúre. Systém CRISPR-Cas9 v tejto bunkovej línii umožňuje presnú úpravu genómu, čím sa zabezpečí presné spojenie značky mEGFP s proteínom Nup358 bez narušenia jeho funkcie. To robí z bunkovej línie HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 cenný nástroj na štúdium štrukturálnych a funkčných aspektov komplexu jadrových pórov. Výskumníci môžu túto bunkovú líniu použiť na získanie poznatkov o mechanizmoch, ktorými sa riadi nukleocytoplazmatický transport, a o úlohe Nup358 v bunkovej homeostáze a chorobných stavoch, ako sú rakovina a vírusové infekcie.

<b>Organism</b>	Ludské
<b>Tissue</b>	Endocervix
<b>Disease</b>	Adenokarcinóm

## Charakteristika

<b>Age</b>	30 rokov
<b>Gender</b>	Ženy
<b>Ethnicity</b>	Afroameričan
<b>Morphology</b>	Epitelové bunky s mozaikovým tvarom kameňa
<b>Growth properties</b>	Adherent

## Regulačné údaje

<b>Citation</b>	HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 (katalógové číslo Cytion 301575)
<b>Biosafety level</b>	1

**HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 bunky | 301575****NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_B7FS**Depositor** Ellenbergova laboratória (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Táto línia HeLa Kyoto obsahuje CRISPR-integrovanú značku mEGFP v lokuse RanBP2/Nup358, ktorá umožňuje vizualizáciu cytoplazmatických vlákien jadrového póru. 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 výrobku 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 odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**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.

**HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 bunky | 301575****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 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating**

Žiadne

**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.

## HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 bunky | 301575

### 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.