

**Bunky HK-CRISPR-Nup62-mEGFP | 300659****Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia HK-CRISPR-Nup62-mEGFP je model ľudských buniek s génom Nup62 označeným monomérom zeleným fluorescenčným proteínom (mEGFP). Táto modifikácia umožňuje vizualizáciu Nup62 v jadrovom obale v reálnom čase, čo pomáha pri štúdiu jadrového transportu, zostavovania a dynamiky NPC. Presná úprava genómu sa dosiahla pomocou technológie CRISPR-Cas9, čo z nej robí spoľahlivý model na skúmanie úlohy Nup62 v bunkových procesoch.

Táto bunková línia je cenná pre výskum nukleocytoplazmatického transportu, regulácie bunkového cyklu a jadrovej architektúry. Fluorescenčné značenie Nup62 umožňuje zobrazovanie s vysokým rozlíšením a sledovanie živých buniek, čo uľahčuje fluorescenčnú mikroskopiu a iné zobrazovacie techniky. Výskumníci môžu skúmať molekulárne mechanizmy jadrovo-cytoplazmatickej výmeny a úlohu Nup62 pri ochoreniach, ako je rakovina a neurodegeneratívne poruchy.

**Organism**

Ľudské

**Tissue**

Endocervix

**Disease**

Adenokarcinóm

**Charakteristika****Age**

30 rokov

**Gender**

Ženy

**Ethnicity**

Afroameričan

**Morphology**

Epitelové bunky s mozaikovým tvarom kameňa

**Growth properties**

Adherent

**Regulačné údaje****Citation**

HK-CRISPR-Nup62-mEGFP (katalógové číslo Cytion 300659)

**Biosafety level**

1

**NCBI\_TaxID**

9606

**Bunky HK-CRISPR-Nup62-mEGFP | 300659****Depositor** Ellenbergova laboratória (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Táto línia HeLa Kyoto obsahuje Nup62 označený mEGFP vytvorený pomocou CRISPR, čo umožňuje zobrazenie komponentov centrálného kanála jadrového póru. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.**Biomolekulárne údaje****Protein expression** Nup62, mEGFP-tag**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.**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.

**Bunky HK-CRISPR-Nup62-mEGFP | 300659****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.

## Bunky HK-CRISPR-Nup62-mEGFP | 300659

### 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.