

**HK-CRISPR-mEGFP-Nup214 Hücreleri | 300671****Genel bilgi****Description**

HK-CRISPR-mEGFP-Nup214 hücre hattı, önemli bir nükleer gözenek kompleksi (NPC) bileşeni olan Nup214'ü incelemek için tasarlanmıştır. CRISPR-Cas9 kullanan bu hücre hattı, Nup214'e monomerik gelişmiş yeşil floresan protein (mEGFP) etiketi ekleyerek nükleositoloplazmik taşıma ve hücre döngüsü düzenlemesindeki rolünün gerçek zamanlı görselleştirilmesine olanak tanır.

Bu hücre hattı, minimum hedef dışı etki sağlar ve NPC yapısını ve işlevini incelemek için gelişmiş görüntüleme tekniklerine olanak tanır. Nükleositoloplazmik taşıma ve bazı lösemiler gibi ilgili hastalıkların araştırılması için değerlidir ve NPC işlevini etkileyen bileşiklerin taranması için kullanışlıdır.

**Organism**

İnsan

**Tissue**

Endoserviks

**Disease**

Adenokarsinom

**Özellikler****Age**

30 yıl

**Gender**

Kadın

**Ethnicity**

Afro-Amerikan

**Morphology**

Mozaik taş şekilli epitel benzeri hücreler

**Growth properties**

Yapışık

**Düzenleyici Veriler****Citation**

HK-CRISPR-mEGFP-Nup214 (Cytion katalog numarası 300671)

**Biosafety level**

1

**NCBI\_TaxID**

9606

**Depositor**

Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)

**HK-CRISPR-mEGFP-Nup214 Hücreleri | 300671**

**GMO Status** GDO-S1: Bu HeLa Kyoto hattı, nükleositol plazmik taşınmayı incelemek için Nup214 lokusunda CRISPR ile tasarlanmış bir mEGFP füzyonu içerir. Bu sınıflandırma sadece Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.

**Biyomoleküler Veriler**

**Protein expression** Nup214, mEGFP etiketi

**Elleçleme**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)

**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

## HK-CRISPR-mEGFP-Nup214 Hücreleri | 300671

### Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

### Incubation Atmosphere

37°C, %5<sub>CO2</sub>, nemlendirilmiş atmosfer.

### Flask Coating

Çözüldükten sonra optimum tutunma ve canlılık için **Kolajen kaplı flasklar veya plakalar** kullanmanızı öneririz.

### Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

### Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

## HK-CRISPR-mEGFP-Nup214 Hücreleri | 300671

### Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

## Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

### Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.