

**HK-CRISPR-NUP205-mEGFP Hücreleri | 301574****Genel bilgi****Description**

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP hücre hattı, nükleoporin 205 (NUP205) ve nükleer gözenek kompleksindeki rolünü incelemek için tasarlanmış genetik olarak tasarlanmış bir insan hücre hattıdır. NUP205'i monomerik gelişmiş yeşil floresan protein (mEGFP) ile etiketlemek için CRISPR-Cas9 ile modifiye edilen bu hücre hattı, NUP205'in canlı hücrelerde görselleştirilmesini ve izlenmesini sağlayarak nükleer taşıma mekanizmaları ve nükleer gözenek kompleksi dinamikleri üzerine araştırmalara yardımcı olur.

NUP205, çekirdek ve sitoplazma arasında molekül taşınmasını düzenleyen kritik bir nükleer gözenek kompleksi bileşenidir. NUP205'in mEGFP ile etiketlenmesi, araştırmacıların floresan mikroskobu altında gerçek zamanlı olarak lokalizasyonunu ve davranışını gözlemlenmelerine olanak tanıyarak, bu hücre hattını nükleer gözenek komplekslerinin yapısal ve işlevsel yönlerini ve gen ifadesi, RNA işleme ve hücre döngüsündeki rollerini incelemek için özellikle yararlı hale getirir.

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP hücre hattı, nükleositoplazmik taşıma mekanizmalarını ve nükleer gözenek kompleksinin hücre homeostazdaki rolünü araştırmak için güçlü bir araçtır. Nükleer gözenek işlevindeki bozulmaların kanser ve nörodejeneratif bozukluklar gibi hastalıklara nasıl katkıda bulunduğunu araştırmak için de değerlidir ve nükleer taşıma anlayışımızı ve bunun insan sağlığı üzerindeki etkilerini iletmek için sağlam bir model sunar.

**Organism** İnsan**Tissue** Endoserviks**Disease** Adenokarsinom**Synonyms** HK-CRISPR-NUP205-mEGFP #81**Özellikler****Age** 30 yıl**Gender** Kadın**Ethnicity** Afro-Amerikan**Morphology** Mozaik taş şekilli epitel benzeri hücreler**Growth properties** Yapışık**Düzenleyici Veriler**

**HK-CRISPR-NUP205-mEGFP Hücreleri | 301574**

<b>Citation</b>	HK-CRISPR-NUP205-mEGFP (Cytion katalog numarası 301574)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_UR49
<b>Depositor</b>	Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Bu HeLa Kyoto hattı, iskele düzeyinde nükleer gözenek araştırması için NUP205 lokusunda CRISPR ile tasarlanmış bir mEGFP füzyonu içerir. Bu sınıflandırma sadece Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.

**Biyomoleküler Veriler**

<b>Products</b>	EGFP (Geliştirilmiş Yeşil Floresan Protein)
-----------------	---------------------------------------------

**Elleçleme**

<b>Culture Medium</b>	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)
<b>Supplements</b>	Ortamı %10 FBS ile takviye edin
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	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 süspense etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspense edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.
<b>Fluid renewal</b>	haftada 2 ila 3 kez
<b>Freeze medium</b>	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-NUP205-mEGFP Hücreleri | 301574

### 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 süspanse 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-NUP205-mEGFP Hücreleri | 301574

### 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.