

## Клітини НК-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655

## Загальна інформація

## Description

Клітинна лінія НК-CRISPR-Nup93-mEGFP отримана з клітин HeLa Kyoto та сконструйована з використанням технології CRISPR/Cas9 для експресії Nup93, злитого з мономерним посиленням зеленим флуоресцентним білком (mEGFP). Це дозволяє візуалізувати Nup93 в ядерній оболонці в режимі реального часу, що допомагає вивчати ядерно-цитоплазматичний транспорт, збірку ядерного порового комплексу та цілісність ядерної оболонки.

Nup93 має вирішальне значення для підтримання архітектури та функціонування ядерного порового комплексу. Мітка mEGFP дозволяє відстежувати його динаміку та взаємодії, що полегшує застосування методів візуалізації з високою роздільною здатністю, таких як конфокальна мікроскопія. Ця клітинна лінія допомагає дослідникам зрозуміти регуляцію генів, нуклеоцитоплазматичний трафік та реакції клітин на стрес.

Клітинна лінія НК-CRISPR-Nup93-mEGFP є цінним ресурсом для вивчення клітинної біології та захворювань, пов'язаних з комплексом ядерних пор, що сприяє розробці потенційних терапевтичних стратегій, спрямованих на шляхи ядерного транспорту. Вона особливо корисна для вивчення ролі ядерної оболонки в клітинній функції та патології.

<b>Organism</b>	Людина
<b>Tissue</b>	Ендоцервікс
<b>Disease</b>	Аденокарцинома

## Характеристики

<b>Age</b>	30 років
<b>Gender</b>	Жінка
<b>Ethnicity</b>	Афроамериканець
<b>Morphology</b>	Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю
<b>Growth properties</b>	Адепт

## Нормативні дані

<b>Citation</b>	НК-CRISPR-Nup93-mEGFP (номер за каталогом Cytion 300655)
-----------------	--

## Клітини НК-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**Depositor** Лабораторія Елленберга (EMBL)**GMO Status** ГМО-S1: Ця лінія HeLa Kyoto містить нок-ін mEGFP в ендogenousному локусі Nup93 для вивчення структури ядерної пори. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.**Біомолекулярні дані****Protein expression** Nup153, mEGFP-ter**Обробка****Culture Medium** ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS**Dissociation Reagent** Аккутаза**Subculturing** Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.**Freeze medium** Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

**Клітини НК-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

**Flask Coating**

Ні

**Freezing  
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно  $-78^{\circ}\text{C}$  під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

## Клітини НК-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.