**Product sheet**

# Клітини HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

## Загальна інформація

| | |
|---|---|
| **Description** | Клітинна лінія HK-CRISPR-NUP205-mEGFP - це генно-інженерна лінія клітин людини, призначена для вивчення нуклеопорину 205 (NUP205) та його ролі в комплексі ядерних пор. Модифікована за допомогою CRISPR-Cas9 для мічення NUP205 мономерним посиленим зеленим флуоресцентним білком (mEGFP), вона дозволяє візуалізувати та відстежувати NUP205 в живих клітинах, що сприяє дослідженню механізмів ядерного транспорту та динаміки ядерно-порового комплексу.<br><br>NUP205 є критично важливим компонентом ядерно-порового комплексу, який регулює транспорт молекул між ядром і цитоплазмою. Мічення NUP205 за допомогою mEGFP дозволяє дослідникам спостерігати його локалізацію та поведінку в режимі реального часу під флуоресцентним мікроскопом, що робить цю клітинну лінію особливо корисною для вивчення структурних і функціональних аспектів ядерно-порових комплексів та їхньої ролі в експресії генів, процесингу РНК і клітинному циклі.<br><br>Клітинна лінія HK-CRISPR-NUP205-mEGFP є потужним інструментом для дослідження механізмів нуклеоцитоплазматичного транспорту та ролі комплексу ядерних пор у клітинному гомеостазі. Вона також цінна для вивчення того, як порушення функції ядерних пор сприяють розвитку таких захворювань, як рак і нейродегенеративні розлади, пропонуючи надійну модель для поглиблення нашого розуміння ядерного транспорту та його наслідків для здоров'я людини. |
| **Organism** | Людина |
| **Tissue** | Ендоцервікс |
| **Disease** | Аденокарцинома |
| **Metastatic site** | Локалізація первинної пухлини (ендоцервікс) |
| **Applications** | Біологія каркаса ядерно-порового комплексу (NPC); візуалізація нуклеопоринів каркаса NUP205; візуалізація живих клітин за допомогою mEGFP; мікроскопія надвисокої роздільної здатності; верифікація нокауту за допомогою CRISPR; ядерно-цитоплазматичний транспорт; структурна організація NPC |
| **Synonyms** | HK-CRISPR-NUP205-mEGFP #81 |

## Характеристики

| | |
|---|---|
| **Age** | 30 років |
| **Gender** | Жінка |
| **Ethnicity** | Афроамериканець |

# Клітини HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

| | |
|---|---|
| **Morphology** | Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю |
| **Cell type** | Епітеліальні клітини |
| **Growth properties** | Адепт |

## Нормативні дані

| | |
|---|---|
| **Citation** | HK-CRISPR-NUP205-mEGFP (номер за каталогом Cytion 301574) |
| **Biosafety level** | 1 |
| **NCBI_TaxID** | 9606 |
| **CellosaurusAccession** | CVCL_UR49 |
| **Depositor** | Лабораторія Елленберга (EMBL) |
| **GMO Status** | ГМО-S1: Ця лінія HeLa Kyoto містить злиття mEGFP за допомогою CRISPR-інженерії в локусі NUP205 для дослідження ядерних пор на рівні скафолду. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах. |

## Біомолекулярні дані

| | |
|---|---|
| **Products** | EGFP (розширений зелений флуоресцентний білок) |

## Обробка

| | |
|---|---|
| **Culture Medium** | ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO3, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a) |
| **Supplements** | Додайте до середовища 10% FBS |
| **Dissociation Reagent** | Аккутаза |

## Клітини HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

| | |
|---|---|
| **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. |
| **Fluid renewal** | 2-3 рази на тиждень |
| **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. |

**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°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°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 x 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. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

## Клітини HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

| | |
|---|---|
| **Incubation Atmosphere** | 37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера. |
| **Flask Coating** | Ні |
| **Freezing Procedure** | Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій 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. |
| **Shipping Conditions** | Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій 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 та молекулярний аналіз

| | |
|---|---|
| **Sterility** | Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.<br><br>Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю. |