

## Клітини НК-CRISPR-Nup62-mEGFP | 300659

## Загальна інформація

## Description

Клітинна лінія НК-CRISPR-Nup62-mEGFP - це модель клітин людини з геном Nup62, міченим мономерним посиленим зеленим флуоресцентним білком (mEGFP). Ця модифікація дозволяє візуалізувати Nup62 в ядерній оболонці в реальному часі, що допомагає вивчати ядерний транспорт, збірку та динаміку NPC. Точне редагування геному було досягнуто за допомогою технології CRISPR-Cas9, що робить його надійною моделлю для дослідження ролі Nup62 у клітинних процесах.

Ця клітинна лінія є цінною для досліджень нуклеоцитоплазматичного транспорту, регуляції клітинного циклу та ядерної архітектури. Флуоресцентне мічення Nup62 дозволяє отримувати зображення з високою роздільною здатністю та відстежувати клітини в реальному часі, що полегшує застосування флуоресцентної мікроскопії та інших методів візуалізації. Дослідники можуть вивчати молекулярні механізми ядерно-цитоплазматичного обміну та роль Nup62 у таких захворюваннях, як рак та нейродегенеративні розлади.

## Organism

Людина

## Tissue

Ендоцervікс

## Disease

Аденокарцинома

## Характеристики

## Age

30 років

## Gender

Жінка

## Ethnicity

Афроамериканець

## Morphology

Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю

## Growth properties

Адепт

## Нормативні дані

## Citation

НК-CRISPR-Nup62-mEGFP (номер за каталогом Cytion 300659)

## Biosafety level

1

## NCBI\_TaxID

9606

## Клітини НК-CRISPR-Nup62-mEGFP | 300659

**Depositor**      Лабораторія Елленберга (EMBL)

**GMO Status**      ГМО-S1: Ця лінія HeLa Kyoto містить мічений mEGFP Nup62, створений за допомогою CRISPR, що дозволяє візуалізувати компоненти центрального каналу ядерної пори. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

## Біомолекулярні дані

**Protein expression**      Nup62, mEGFP-тег

## 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 криоконсервування 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-Nup62-mEGFP | 300659

### 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 криовіал 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 криовіал 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

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

### Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній 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-Nup62-mEGFP | 300659

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній 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 / 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.