

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

## Generel information

## Description

HK-CRISPR-mEGFP-Nup214-cellelinjen er designet til at studere Nup214, en vigtig komponent i kerneporekomplekset (NPC). Ved hjælp af CRISPR-Cas9 tilføjer denne cellelinje et monomert forbedret grønt fluorescerende protein (mEGFP)-tag til Nup214, hvilket muliggør realtidsvisualisering af dets rolle i nukleocytoplasmatisk transport og cellecyklusregulering.

Denne cellelinje sikrer minimale off-target-effekter og muliggør avancerede billeddannelsesteknikker til at studere NPC's struktur og funktion. Den er værdifuld til at undersøge nukleocytoplasmatisk transport og relaterede sygdomme, som f.eks. visse leukæmier, og er nyttig til screening af stoffer, der påvirker NPC-funktionen.

**Organism** Menneske

**Tissue** Endocervix

**Disease** Adenokarcinom

## Karakteristika

**Age** 30 år

**Gender** Kvinde

**Ethnicity** Afroamerikaner

**Morphology** Epitel-lignende celler med mosaikstenform

**Growth properties** Vedhæftende

## Regulatoriske data

**Citation** HK-CRISPR-mEGFP-Nup214 (Cytion katalognummer 300671)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

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

**GMO Status** GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linje indeholder en CRISPR-konstrueret mEGFP-fusion ved Nup214-locus til undersøgelse af nukleocytoplasmatisk transport. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

**Biomolekylære data**

**Protein expression** Nup214, mEGFP-tag

**Håndtering**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmoteskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

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

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befugtet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

### Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

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

### Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

## Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.