

## HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358-celler | 301575

## General information

## Description

HK-CRISPR-mEGFP-Nup358-cellelinjen er et genetisk manipuleret derivat af HeLa Kyoto-celler, der er kendt for deres robusthed og udbredte brug i videnskabelig forskning. Denne cellelinje er blevet modificeret ved hjælp af CRISPR-Cas9-teknologi til at udtrykke mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) mærket Nup358, en afgørende komponent i kerneporekomplekset (NPC). Nup358, også kendt som RanBP2, spiller en vigtig rolle i nukleocytoplasmatiske transport, mitotisk spindelsamling og andre cellulære processer. MEGFP-mærket gør det muligt at visualisere Nup358 og dermed observere dens dynamik og interaktioner i cellen i realtid.

HeLa Kyoto-celler, en underlinje af de oprindelige HeLa-celler, er kendetegnet ved deres tilpasningsevne og stabile vækst i kultur. CRISPR-Cas9-systemet i denne cellelinje muliggør præcis genomisk redigering og sikrer, at mEGFP-tagget er præcist fusioneret til Nup358-proteinet uden at forstyrre dets funktion. Det gør HK-CRISPR-mEGFP-Nup358-cellelinjen til et værdifuldt værktøj til at studere de strukturelle og funktionelle aspekter af kerneporekomplekset. Forskere kan bruge denne cellelinje til at få indsigt i de mekanismer, der styrer nukleocytoplasmatiske transport, og Nup358's rolle i cellulær homeostase og sygdomstilstande, såsom kræft og virusinfektioner.

## 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-Nup358 (Cytion katalognummer 301575)

## Biosafety level

1

**HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358-celler | 301575****NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_B7FS**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linje indeholder et CRISPR-integreret mEGFP-tag ved RanBP2/Nup358-locus, hvilket muliggør visualisering af cytoplasmatiske filamenter i kerneporen. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Products** EGFP (forstærket grønt fluorescerende protein)**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.**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**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 osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

## HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358-celler | 301575

### 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-RanBP2/Nup358-celler | 301575

### 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.