

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

### Γενικές πληροφορίες

#### Description

Η κυτταρική σειρά HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 είναι ένα γενετικά τροποποιημένο παράγωγο των κυττάρων HeLa του Κιότο, γνωστό για την ανθεκτικότητά του και την ευρεία χρήση του στην επιστημονική έρευνα. Αυτή η κυτταρική σειρά έχει τροποποιηθεί με τη χρήση της τεχνολογίας CRISPR-Cas9 ώστε να εκφράζει την mEGFP (μονομερής ενισχυμένη πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη) με ετικέτα Nup358, ένα κρίσιμο συστατικό του συμπλόκου του πυρηνικού πόρου (NPC). Το Nup358, επίσης γνωστό ως RanBP2, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην πυρηνοκυτταροπλασματική μεταφορά, στη συναρμολόγηση της μιτωτικής ατράκτου και σε άλλες κυτταρικές διεργασίες. Η ετικέτα mEGFP επιτρέπει την οπτικοποίηση του Nup358, διευκολύνοντας την παρατήρηση σε πραγματικό χρόνο της δυναμικής και των αλληλεπιδράσεών του εντός του κυττάρου.

Τα κύτταρα HeLa Kyoto, μια υποσειρά των αρχικών κυττάρων HeLa, χαρακτηρίζονται από την προσαρμοστικότητά τους και τη σταθερή ανάπτυξή τους σε καλλιέργεια. Το σύστημα CRISPR-Cas9 σε αυτή τη σειρά κυττάρων επιτρέπει την ακριβή γονιδιωματική επεξεργασία, εξασφαλίζοντας ότι η ετικέτα mEGFP συγχωνεύεται με ακρίβεια στην πρωτεΐνη Nup358 χωρίς να διαταράσσεται η λειτουργία της. Αυτό καθιστά την κυτταρική σειρά HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 ένα πολύτιμο εργαλείο για τη μελέτη των δομικών και λειτουργικών πτυχών του συμπλόκου του πυρηνικού πόρου. Οι ερευνητές μπορούν να χρησιμοποιήσουν αυτή την κυτταρική σειρά για να αποκτήσουν γνώσεις σχετικά με τους μηχανισμούς που διέπουν την πυρηνοκυτταροπλασματική μεταφορά και το ρόλο της Nup358 στην κυτταρική ομοιόσταση και σε καταστάσεις ασθενειών, όπως ο καρκίνος και οι ιογενείς λοιμώξεις.

#### Organism

Ανθρώπινο

#### Tissue

Ενδοτράχηλος

#### Disease

Αδενοκαρκίνωμα

### Χαρακτηριστικά

#### Age

30 χρόνια

#### Gender

Γυναίκα

#### Ethnicity

Αφροαμερικανός

#### Morphology

Επιθηλιακά κύτταρα με ψηφιδωτό σχήμα πέτρας

#### Growth properties

Προσκολλημένο

### Ρυθμιστικά δεδομένα

#### Citation

HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 (αριθμός καταλόγου Cytion 301575)

**HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 Κύτταρα | 301575****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_B7FS**Depositor** Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Αυτή η γραμμή HeLa Kyoto περιέχει μια ενσωματωμένη με CRISPR ετικέτα mEGFP στον τόπο RanBP2/Nup358, επιτρέποντας την απεικόνιση των κυτταροπλασματικών νηματίων του πυρηνικού πόρου. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.**Βιομοριακά δεδομένα****Products** EGFP (ενισχυμένη πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη)**Χειρισμός****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

**HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 Κύτταρα | 301575****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Flask Coating**

Κανένα

**Freezing  
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

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

### Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου  $-150$  έως  $-196^{\circ}\text{C}$ . Η αποθήκευση στους  $-80^{\circ}\text{C}$  είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

## Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

### Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.