

Células HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 | 301575**Información general****Description**

La línea celular HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 es un derivado genéticamente modificado de las células HeLa de Kioto, conocidas por su robustez y amplio uso en la investigación científica. Esta línea celular ha sido modificada utilizando la tecnología CRISPR-Cas9 para expresar mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) marcada con Nup358, un componente crucial del complejo del poro nuclear (NPC). Nup358, también conocido como RanBP2, desempeña un papel importante en el transporte nucleocitoplasmático, el ensamblaje del huso mitótico y otros procesos celulares. La etiqueta mEGFP permite la visualización de Nup358, facilitando la observación en tiempo real de su dinámica e interacciones dentro de la célula.

Las células HeLa Kyoto, una sublínea de las células HeLa originales, se caracterizan por su adaptabilidad y crecimiento estable en cultivo. El sistema CRISPR-Cas9 de esta línea celular permite una edición genómica precisa, garantizando que la etiqueta mEGFP se fusione con precisión a la proteína Nup358 sin alterar su función. Esto convierte a la línea celular HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 en una valiosa herramienta para estudiar los aspectos estructurales y funcionales del complejo del poro nuclear. Los investigadores pueden utilizar esta línea celular para comprender mejor los mecanismos que rigen el transporte nucleocitoplasmático y el papel de Nup358 en la homeostasis celular y en estados patológicos como el cáncer y las infecciones víricas.

Organism Humano**Tissue** Endocervix**Disease** Adenocarcinoma**Características****Age** 30 años**Gender** Mujer**Ethnicity** Afroamericanos**Morphology** Células de aspecto epitelial con forma de piedra en mosaico**Growth properties** Adherente**Datos reglamentarios****Citation** HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 (número de catálogo de Cytion 301575)**Biosafety level** 1

Células HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 | 301575**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FS**Depositor** Laboratorio Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Esta línea HeLa Kyoto contiene una etiqueta mEGFP integrada en CRISPR en el locus RanBP2/Nup358, lo que permite la visualización de los filamentos citoplasmáticos del poro nuclear. Esta clasificación sólo se aplica en Alemania y puede diferir en otros países.**Datos biomoleculares****Products** EGFP (proteína fluorescente verde mejorada)**Manejo de****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO₃, w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)**Supplements** Complementar el medio con un 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.**Split ratio** Se recomienda una proporción de 1:3**Fluid renewal** de 2 a 3 veces por semana**Freeze medium** Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Células HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 | 301575

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmósfera humidificada.

Flask Coating

Ninguno

Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Células HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 | 301575

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.