

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

## Általános információk

## Description

A HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 sejt vonal a HeLa kiotói sejtek genetikailag módosított származéka, amely robusztusságáról és a tudományos kutatásban való széles körű használatáról ismert. Ezt a sejt vonalat a CRISPR-Cas9 technológiával módosították, hogy mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) jelölésű Nup358-at, a nukleáris pórus komplex (NPC) egyik fontos alkotóelemét expresszálja. A Nup358, más néven RanBP2, jelentős szerepet játszik a nukleocitoplazmatikus transzportban, a mitotikus orsó összeszerelésében és más sejt folyamatokban. A mEGFP tag lehetővé teszi a Nup358 vizualizálását, megkönnyítve a sejten belüli dinamikájának és kölcsönhatásainak valós idejű megfigyelését.

A HeLa Kyoto sejteket, az eredeti HeLa sejtek alvonalát alkalmazkodóképesség és stabil növekedés jellemzi a kultúrában. A CRISPR-Cas9 rendszer ebben a sejt vonalban lehetővé teszi a pontos genomszerkesztést, biztosítva, hogy a mEGFP címke pontosan fuzionáljon a Nup358 fehérjéhez anélkül, hogy megzavarná annak működését. Ez teszi a HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 sejt vonalat értékes eszközzé a nukleáris pórus komplex strukturális és funkcionális aspektusainak tanulmányozásához. A kutatók ezt a sejt vonalat arra használhatják, hogy betekintést nyerjenek a nukleocitoplazmatikus transzportot irányító mechanizmusokba, valamint a Nup358 szerepébe a sejtek homeosztázisában és olyan betegségekben, mint a rák és a vírusfertőzések.

**Organism** Emberi

**Tissue** Endocervix

**Disease** Adenokarcinóma

## Jellemzők

**Age** 30 év

**Gender** Női

**Ethnicity** Afroamerikai

**Morphology** Epithelszerű, mozaikos kő alakú sejtek

**Growth properties** Adherent

## Szabályozási adatok

**Citation** HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 (Cytion katalógusszám: 301575)

**Biosafety level** 1

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

**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_B7FS**Depositor** Az Ellenberg Labor (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ez a HeLa Kyoto vonal CRISPR-integrált mEGFP taget tartalmaz a RanBP2/Nup358 lokuszon, amely lehetővé teszi a nukleáris pórus citoplazmatikus filamentumainak vizualizálását. Ez az osztályozás csak Németországban érvényes, és máshol eltérhet.**Biomolekuláris adatok****Products** EGFP (Fokozott zöld fluoreszcens fehérje)**A kezelése****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

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

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

**Flask Coating**

Nincs

**Freezing  
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping  
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

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

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.