

Sel HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 | 301575**Informasi umum****Description**

Garis sel HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 adalah turunan rekayasa genetika dari sel HeLa Kyoto, yang dikenal karena ketangguhannya dan digunakan secara luas dalam penelitian ilmiah. Lini sel ini telah dimodifikasi menggunakan teknologi CRISPR-Cas9 untuk mengekspresikan mEGFP (monomer Enhanced Green Fluorescent Protein) yang ditandai dengan Nup358, komponen penting dari kompleks pori nuklir (NPC). Nup358, juga dikenal sebagai RanBP2, memainkan peran penting dalam transpor nukleositoplasma, perakitan spindle mitosis, dan proses seluler lainnya. Tag mEGFP memungkinkan visualisasi Nup358, memfasilitasi pengamatan waktu nyata dari dinamika dan interaksinya di dalam sel.

Sel HeLa Kyoto, subgalur dari sel HeLa asli, dicirikan oleh kemampuan beradaptasi dan pertumbuhan yang stabil dalam kultur. Sistem CRISPR-Cas9 dalam garis sel ini memungkinkan pengeditan genom yang tepat, memastikan tag mEGFP secara akurat menyatu dengan protein Nup358 tanpa mengganggu fungsinya. Hal ini menjadikan jalur sel HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 sebagai alat yang berharga untuk mempelajari aspek struktural dan fungsional dari kompleks pori nuklir. Para peneliti dapat menggunakan garis sel ini untuk mendapatkan wawasan tentang mekanisme yang mengatur transpor nukleositoplasma dan peran Nup358 dalam homeostasis seluler dan keadaan penyakit, seperti kanker dan infeksi virus.

Organism Manusia**Tissue** Endoserviks**Disease** Adenokarsinoma**Karakteristik****Age** 30 tahun**Gender** Perempuan**Ethnicity** Afrika-Amerika**Morphology** Sel mirip epitel dengan bentuk batu mosaik**Growth properties** Patuh**Data Peraturan****Citation** HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 (Nomor katalog Cytion 301575)**Biosafety level** 1

Sel HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 | 301575**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FS**Depositor** Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Jalur HeLa Kyoto ini mengandung tag mEGFP terintegrasi CRISPR pada lokus RanBP2/Nup358, yang memungkinkan visualisasi filamen sitoplasma dari pori nuklir. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.**Data Biomolekuler****Products** EGFP (Enhanced Green Fluorescent Protein)**Penanganan****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)**Supplements** Tambahkan media dengan 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.**Fluid renewal** 2 hingga 3 kali per minggu**Freeze medium** Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

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

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $300 \times g$ selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

Flask Coating

Tidak ada

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

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

**Storage
Conditions**

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.