

**Sel HK-CRISPR-Pom121-mCherry | 300658****Informasi umum****Description**

Garis sel HK-CRISPR-Pom121-mCherry adalah varian sel HeLa Kyoto yang direkayasa secara genetik, yang dirancang untuk penelitian seluler tingkat lanjut. Sel-sel ini telah dimodifikasi menggunakan teknologi CRISPR-Cas9 untuk menambahkan tag mCherry neon ke gen Pom121, komponen kunci dari kompleks pori nuklir (NPC). Modifikasi ini memungkinkan para peneliti untuk memvisualisasikan Pom121 secara real-time, membantu studi dinamika nuklir dan fungsi NPC.

Tag mCherry, yang memancarkan fluoresensi merah, memfasilitasi pemeriksaan terperinci dari perilaku NPC dan transpor nuklir-sitoplasma menggunakan mikroskop fluoresensi. Garis sel ini adalah alat yang berharga untuk menyelidiki protein pori nuklir, regulasi ekspresi gen, kontrol siklus sel, dan transduksi sinyal.

**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-Pom121-mCherry (nomor katalog Cytion 300658)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**Depositor** Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)

**Sel HK-CRISPR-Pom121-mCherry | 300658**

**GMO Status** GMO-S1: Jalur HeLa Kyoto ini mengandung tag mCherry yang dimediasi oleh CRISPR pada Pom121 yang memungkinkan visualisasi komponen membran pori nuklir. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.

**Data Biomolekuler**

**Protein expression** Pom121, mCherry-tag

**Penanganan**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, 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.

**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-Pom121-mCherry | 300658

### 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  $-150^{\circ}\text{C}$  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  $37^{\circ}\text{C}$  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 x 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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78^{\circ}\text{C}$  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  $-78^{\circ}\text{C}$  selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

## Sel HK-CRISPR-Pom121-mCherry | 300658

### 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.