

**HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 Cellen | 301575****Algemene informatie****Description**

De HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 cellijn is een genetisch gemanipuleerde afgeleide van HeLa Kyoto cellen, bekend om hun robuustheid en wijdverbreid gebruik in wetenschappelijk onderzoek. Deze cellijn is gemodificeerd met CRISPR-Cas9-technologie om mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) gemerkt Nup358, een cruciaal onderdeel van het nucleaire poriëncomplex (NPC), tot expressie te brengen. Nup358, ook bekend als RanBP2, speelt een belangrijke rol in nucleocytoplasmatisch transport, de assemblage van mitotische spindels en andere cellulaire processen. De mEGFP tag maakt de visualisatie van Nup358 mogelijk, waardoor real-time observatie van de dynamiek en interacties binnen de cel mogelijk wordt.

HeLa Kyoto-cellen, een sublijn van de oorspronkelijke HeLa-cellen, worden gekenmerkt door hun aanpassingsvermogen en stabiele groei in cultuur. Het CRISPR-Cas9 systeem in deze cellijn maakt precieze genomische bewerking mogelijk en zorgt ervoor dat de mEGFP tag nauwkeurig met het Nup358 eiwit wordt versmolten zonder de functie ervan te verstoren. Dit maakt de HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 cellijn een waardevol hulpmiddel voor het bestuderen van de structurele en functionele aspecten van het nucleaire poriëncomplex. Onderzoekers kunnen deze cellijn gebruiken om inzicht te krijgen in de mechanismen die het nucleocytoplasmatisch transport regelen en de rol van Nup358 in cellulaire homeostase en ziektebeelden, zoals kanker en virale infecties.

**Organism**

Mens

**Tissue**

Endocervix

**Disease**

Adenocarcinoom

**Kenmerken****Age**

30 jaar

**Gender**

Vrouw

**Ethnicity**

Afro-Amerikaan

**Morphology**

Epitheelachtige cellen met mozaïeksteenvorm

**Growth properties**

Aanhangend

**Regelgevende gegevens****Citation**

HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 (Cytion catalogusnummer 301575)

**HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 Cellen | 301575****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_B7FS**Depositor** Het Ellenberg Lab (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Deze HeLa Kyoto-lijn bevat een CRISPR-geïntegreerde mEGFP-tag op de RanBP2/Nup358-locus, waardoor cytoplasmatische filamenten van de nucleaire porie zichtbaar worden. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders afwijken.**Biomoleculaire gegevens****Products** EGFP (verbeterd groen fluorescerend eiwit)**Omgaan met****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.**Split ratio** Een verhouding van 1:3 wordt aanbevolen**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

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

### Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij  $300 \times g$  om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , bevochtigde atmosfeer.

### Flask Coating

Geen

### Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

### Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

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

### Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

## Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

### Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.