

## HK-CRISPR-Nup93-mEGFP-celler | 300655

## Generell informasjon

## Description

HK-CRISPR-Nup93-mEGFP-cellelinjen er avledet fra Hela Kyoto-celler og konstruert ved hjelp av CRISPR/Cas9-teknologi for å uttrykke Nup93 fusjonert med monomerisk forsterket grønt fluorescerende protein (mEGFP). Dette gjør det mulig å visualisere Nup93 i kjerneskjoldet i sanntid, noe som bidrar til å studere kjerne-cytoplasmatiske transport, kjerneporekompleksets montering og kjerneskjoldets integritet.

Nup93 er avgjørende for å opprettholde kjerneporekompleksets arkitektur og funksjon. Med mEGFP-koden kan man spore dynamikken og interaksjonene, noe som gjør det mulig å bruke høyoppløselige avbildningsteknikker som konfokalmikroskopi. Denne cellelinjen hjelper forskere med å forstå genregulering, nukleocytoplasmatiske transport og cellulære stressresponser.

HK-CRISPR-Nup93-mEGFP-cellelinjen er en verdifull ressurs for studier av cellebiologi og sykdommer som er assosiert med kjerneporekomplekset, og bidrar til potensielle terapeutiske strategier rettet mot nukleære transportveier. Den er spesielt nyttig for å utforske kjerneporekompleksets rolle i celledyrking og patologi.

## Organism

Menneskelig

## Tissue

Endocervix

## Disease

Adenokarsinom

## Kjennetegn

## Age

30 år

## Gender

Kvinne

## Ethnicity

Afroamerikaner

## Morphology

Epitel-lignende celler med mosaikksteinform

## Growth properties

Vedhengende

## Regulatoriske data

## Citation

HK-CRISPR-Nup93-mEGFP (Cytion katalognummer 300655)

## Biosafety level

1

## NCBI\_TaxID

9606

**HK-CRISPR-Nup93-mEGFP-celler | 300655****Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linjen inneholder en mEGFP knock-in på det endogene Nup93-lokuset for studier av kjerneporestruktur. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Protein expression** Nup153, mEGFP-tag**Håndtering****Culture Medium** DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

## HK-CRISPR-Nup93-mEGFP-celler | 300655

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

## HK-CRISPR-Nup93-mEGFP-celler | 300655

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.