

## HK-CRISPR-mEGFP-Nup214-celler | 300671

## Generell informasjon

## Description

HK-CRISPR-mEGFP-Nup214-cellelinjen er utviklet for å studere Nup214, en nøkkelkomponent i kjernepore-komplekset (NPC). Ved hjelp av CRISPR-Cas9 tilfører denne cellelinjen et monomert forsterket grønt fluorescerende protein (mEGFP) til Nup214, noe som muliggjør sanntidsvisualisering av dens rolle i nukleocytoplasmatiske transport og cellyklusregulering.

Denne cellelinjen sikrer minimale off-target-effekter og muliggjør avanserte avbildningsteknikker for å studere NPC-struktur og -funksjon. Den er verdifull for å undersøke nukleocytoplasmatiske transport og relaterte sykdommer, for eksempel visse leukemier, og er nyttig for screening av forbindelser som påvirker NPC-funksjonen.

## 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-mEGFP-Nup214 (Cytion katalognummer 300671)

## Biosafety level

1

## NCBI\_TaxID

9606

## Depositor

Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

**HK-CRISPR-mEGFP-Nup214-celler | 300671**

**GMO Status** GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linjen inneholder en CRISPR-konstruert mEGFP-fusjon ved Nup214-lokuset for studier av nukleocytoplasmatisk transport. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.

**Biomolekylære data**

**Protein expression** Nup214, 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 osmibeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

## HK-CRISPR-mEGFP-Nup214-celler | 300671

### 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

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

### 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-mEGFP-Nup214-celler | 300671

### 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.