

## HK-CRISPR-Nup188-mEGFP-celler | 300657

## Generell informasjon

## Description

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP er en genmodifisert Hela Kyoto-cellelinje. Den bruker CRISPR/Cas9-teknologi for å integrere mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) i Nup188-lokuset. Nup188 er et viktig nukleoporinprotein som er involvert i kjerneporekomplekset, som er avgjørende for molekyltransporten mellom kjernen og cytoplasmaet. Merkingen med mEGFP gjør det mulig å visualisere Nup188 i sanntid, noe som bidrar til studier av kjerneporekompleksets dynamikk og funksjon.

Denne cellelinjen er spesielt nyttig for forskere som fokuserer på kjernetransport og kjerneporekompleksets biologi. Den fluorescerende merkingen gjør det mulig å observere Nup188 under ulike forhold, inkludert medikamentell behandling og genetiske modifikasjoner. Den kan blant annet brukes til screening med høyt innhold, avbildning av levende celler og andre fluorescensbaserte teknikker, noe som gir verdifull innsikt i nukleocytoplasmatiske transport og kjernekonvoluttets integritet.

**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-Nup188-mEGFP (Cytion katalognummer 300657)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**HK-CRISPR-Nup188-mEGFP-celler | 300657****Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linjen inneholder en CRISPR-knock-in av mEGFP ved Nup188-locus, noe som muliggjør visualisering av kjerneporestillasets dynamikk. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Protein expression** Nup188, 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 kryoundusert stress.

**HK-CRISPR-Nup188-mEGFP-celler | 300657****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 cellepelleten 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-Nup188-mEGFP-celler | 300657

### 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.