

## HK-CRISPR-Nup62-mEGFP-celler | 300659

## Generell informasjon

## Description

HK-CRISPR-Nup62-mEGFP-cellelinjen er en human cellemodell med Nup62-genet merket med monomert Enhanced Green Fluorescent Protein (mEGFP). Denne modifikasjonen gjør det mulig å visualisere Nup62 i kjerneskjoldet i sanntid, noe som bidrar til studier av kjernetransport, NPC-montering og -dynamikk. Nøyaktig genomredigering ble oppnådd ved hjelp av CRISPR-Cas9-teknologi, noe som gjør den til en pålitelig modell for å undersøke Nup62s rolle i cellulære prosesser.

Denne cellelinjen er verdifull for forskning på nukleocytoplasmatisk transport, cellesyklusregulering og nukleær arkitektur. Den fluorescerende merkingen av Nup62 muliggjør høyoppløselig avbildning og sporing av levende celler, noe som forenkler fluorescensmikroskopi og andre avbildningsteknikker. Forskere kan utforske de molekylære mekanismene for nukleær-cytoplasmatisk utveksling og Nup62s rolle i sykdommer som kreft og neurodegenerative lidelser.

**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-Nup62-mEGFP (Cytion katalognummer 300659)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

## HK-CRISPR-Nup62-mEGFP-celler | 300659

**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

**GMO Status** GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linjen inneholder en mEGFP-merket Nup62 generert via CRISPR, noe som muliggjør avbildning av kjerneporekomponenter i den sentrale kanalen. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.

**Biomolekylære data**

**Protein expression** Nup62, 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 osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

**HK-CRISPR-Nup62-mEGFP-celler | 300659****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-Nup62-mEGFP-celler | 300659

### 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.