

**Komórki HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 | 301575****Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 jest genetycznie zmodyfikowaną pochodną komórek HeLa Kyoto, znanych ze swojej wytrzymałości i szerokiego zastosowania w badaniach naukowych. Ta linia komórkowa została zmodyfikowana przy użyciu technologii CRISPR-Cas9 w celu ekspresji mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) znakowanego Nup358, kluczowego składnika kompleksu porów jądrowych (NPC). Nup358, znany również jako RanBP2, odgrywa znaczącą rolę w transporcie nukleocytoplazmatycznym, montażu wrzeciona mitotycznego i innych procesach komórkowych. Znacznik mEGFP pozwala na wizualizację Nup358, ułatwiając obserwację w czasie rzeczywistym jego dynamiki i interakcji w komórce.

Komórki HeLa Kyoto, podlinia oryginalnych komórek HeLa, charakteryzują się zdolnością adaptacji i stabilnym wzrostem w hodowli. System CRISPR-Cas9 w tej linii komórkowej umożliwia precyzyjną edycję genomu, zapewniając, że znacznik mEGFP jest dokładnie połączony z białkiem Nup358 bez zakłócania jego funkcji. To sprawia, że linia komórkowa HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 jest cennym narzędziem do badania strukturalnych i funkcjonalnych aspektów kompleksu porów jądrowych. Naukowcy mogą wykorzystać tę linię komórkową do uzyskania wglądu w mechanizmy regulujące transport nukleocytoplazmatyczny i rolę Nup358 w homeostazie komórkowej i stanach chorobowych, takich jak rak i infekcje wirusowe.

**Organism** Człowiek**Tissue** Szyjka macicy**Disease** Gruczolakorak**Charakterystyka****Age** 30 lat**Gender** Kobieta**Ethnicity** Afroamerykanin**Morphology** Komórki podobne do nabłonka o mozaikowym kształcie kamienia**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 (numer katalogowy Cytion 301575)**Biosafety level** 1

**Komórki HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 | 301575****NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_B7FS**Depositor** Laboratorium Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ta linia HeLa Kyoto zawiera zintegrowany metodą CRISPR znacznik mEGFP w locus RanBP2/Nup358, umożliwiający wizualizację cytoplazmatycznych filamentów porów jądrowych. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może różnić się w innych krajach.**Dane biomolekularne****Products** EGFP (wzmocnione zielone białko fluorescencyjne)**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzuppełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:3**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**Komórki HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 | 301575****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

**Flask Coating**

Brak

**Freezing  
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

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

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.