

## Komórki HK-CRISPR-Tpr-mEGFP | 300662

## Informacje ogólne

## Description

Linia komórkowa HK-CRISPR-Tpr-mEGFP to wyspecjalizowany model opracowany do zaawansowanych badań genetycznych, w szczególności w zakresie edycji genomu i badań ekspresji genów. Pochodzi z komórek HeLa Kyoto i integruje technologię CRISPR/Cas9 do precyzyjnych modyfikacji genomu. Włączenie genu reporterowego mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) ułatwia wizualizację i śledzenie procesów komórkowych w czasie rzeczywistym, co czyni go solidnym narzędziem do badania funkcji genów, lokalizacji białek i dynamicznych zdarzeń komórkowych w żywych komórkach.

Ta linia komórkowa jest szczególnie przydatna w badaniach nefrologicznych, odkrywaniu leków i badaniach toksykologicznych. Ekspresja genu Tpr, składnika kompleksu porów jądrowych, pomaga w zrozumieniu mechanizmów transportu jądrowego i kompartmentalizacji komórkowej. Naukowcy wykorzystują komórki HK-CRISPR-Tpr-mEGFP do badania roli białek porów jądrowych w różnych szlakach komórkowych, przyczyniając się do wglądu w raka, infekcje wirusowe i zaburzenia genetyczne.

**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-Tpr-mEGFP (numer katalogowy Cytion 300662)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**Komórki HK-CRISPR-Tpr-mEGFP | 300662****Depositor** Laboratorium Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ta linia HeLa Kyoto zawiera znakowany mEGFP Tpr generowany za pomocą CRISPR, umożliwiając badania architektury koszyka jądrowego. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.**Dane biomolekularne****Protein expression** Tpr, znacznik mEGFP**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** Uzupelnic podloze 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.**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-Tpr-mEGFP | 300662****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-Tpr-mEGFP | 300662

### 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.