

## HK-CRISPR-mEGFP-Seh1-celler | 300669

## Allmän information

## Description

Cellinjen HK-CRISPR-mEGFP-Seh1 är konstruerad för exakt genomisk redigering med CRISPR/Cas9-systemet, med Seh1-genen som mål. Seh1 är en del av kärnporkomplexet, vilket är avgörande för nukleocytoplasmisk transport. Inkluderingen av monomert förstärkt grönt fluorescerande protein (mEGFP) möjliggör visualisering av Seh1, vilket underlättar studier av dess cellulära lokalisering och funktion.

Denna cellinje är värdefull för forskning om Seh1:s roll i cellulära processer som mitos och genuttryck. Den fluorescerande märkningen med mEGFP möjliggör avbildning i levande celler, vilket underlättar undersökningar av sjukdomar som är kopplade till dysfunktion i kärnporkomplexet, inklusive vissa cancerformer och neurodegenerativa sjukdomar. HK-CRISPR-mEGFP-Seh1-cellinjen kombinerar genetisk modifiering med avancerad bildbehandling för omfattande biomedicinsk forskning.

**Organism** Människan

**Tissue** Endocervix

**Disease** Adenocarcinom

## Egenskaper

**Age** 30 år

**Gender** Kvinna

**Ethnicity** Afroamerikan

**Morphology** Epitelliknande celler med mosaikstensform

**Growth properties** Följsam

## Lagstadgade uppgifter

**Citation** HK-CRISPR-mEGFP-Seh1 (Cytion katalognummer 300669)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

**HK-CRISPR-mEGFP-Seh1-celler | 300669**

**GMO Status** GMO-S1: Denna HeLa Kyoto-linje innehåller en CRISPR-knock-in av mEGFP vid Seh1-lokuset, vilket stöder analys av Y-komplexets dynamik i levande celler. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.

**Biomolekylära data**

**Protein expression** Seh1, mEGFP-tag

**Hantering**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

**Freeze medium** Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

## HK-CRISPR-mEGFP-Seh1-celler | 300669

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid  $300 \times g$  i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befuktad atmosfär.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

### Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

## HK-CRISPR-mEGFP-Seh1-celler | 300669

### Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.