

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

## Splošne informacije

## Description

Celična linija HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 je gensko spremenjen derivat celic HeLa Kyoto, ki so znane po svoji robustnosti in široki uporabi v znanstvenih raziskavah. Ta celična linija je bila spremenjena s tehnologijo CRISPR-Cas9 za izražanje mEGFP (monomernega izboljšane zeleno fluorescentnega proteina), označenega z Nup358, ki je ključna sestavina kompleksa jedrnih por (NPC). Nup358, znan tudi pod imenom RanBP2, ima pomembno vlogo pri prenosu nukleocitoplazme, sestavljanju mitotičnega vretena in drugih celičnih procesih. Oznaka mEGFP omogoča vizualizacijo Nup358, kar olajša opazovanje njegove dinamike in interakcij v celici v realnem času.

Za celice HeLa Kyoto, podlinijo prvotnih celic HeLa, sta značilni prilagodljivost in stabilna rast v kulturi. Sistem CRISPR-Cas9 v tej celični liniji omogoča natančno urejanje genoma, kar zagotavlja, da je oznaka mEGFP natančno spojena z beljakovino Nup358, ne da bi pri tem motila njeno delovanje. Zato je celična linija HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 dragoceno orodje za preučevanje strukturnih in funkcionalnih vidikov kompleksa jedrnih por. Raziskovalci lahko s to celično linijo pridobijo vpogled v mehanizme, ki uravnavajo nukleocitoplazemski transport, in vlogo Nup358 v celični homeostazi in bolezenskih stanjih, kot so rak in virusne okužbe.

## Organism

Človek

## Tissue

Endocervix

## Disease

Adenokarcinom

## Značilnosti

## Age

30 let

## Gender

Ženske

## Ethnicity

Afroameričan

## Morphology

Epitelnim celicam podobne celice z obliko mozaičnih kamenčkov

## Growth properties

Pripadajoče

## Regulativni podatki

## Citation

HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 (kataloška številka Cytion 301575)

## Biosafety level

1

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

**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_B7FS**Depositor** Laboratorij Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ta linija HeLa Kyoto vsebuje oznako mEGFP, integrirano s CRISPR, na lokusu RanBP2/Nup358, kar omogoča vizualizacijo citoplazemskih filamentov jedrske pore. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.**Biomolekularni podatki****Products** EGFP (okrepljeni zeleni fluorescenčni protein)**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene ga s kriom.

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

### Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri  $300 \times g$  3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , vlažno ozračje.

### Flask Coating

Nič

### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

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

### Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

## Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

### Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.