**Product sheet**

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

## Загальна інформація

| | |
|---|---|
| **Description** | Клітинна лінія HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 є генно-інженерним похідним клітин HeLa Kyoto, відомих своєю стійкістю та широким використанням у наукових дослідженнях. Цю клітинну лінію було модифіковано за допомогою технології CRISPR-Cas9 для експресії mEGFP (мономерного розширеного зеленого флуоресцентного білка), міченого Nup358, критично важливого компонента ядерного порового комплексу (NPC). Nup358, також відомий як RanBP2, відіграє важливу роль у нуклеоцитоплазматичному транспорті, складанні мітотичного веретена та інших клітинних процесах. Мітка mEGFP дозволяє візуалізувати Nup358, полегшуючи спостереження за його динамікою та взаємодією в клітині в режимі реального часу.<br><br>Клітини HeLa Kyoto, сублінія оригінальних клітин HeLa, характеризуються адаптивністю та стабільним ростом у культурі. Система CRISPR-Cas9 в цій клітинній лінії дозволяє проводити точне геномне редагування, забезпечуючи точне злиття мітки mEGFP з білком Nup358, не порушуючи його функції. Це робить клітинну лінію HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 цінним інструментом для вивчення структурних і функціональних аспектів ядерного порового комплексу. Дослідники можуть використовувати цю клітинну лінію для вивчення механізмів нуклеоцитоплазматичного транспорту та ролі Nup358 у клітинному гомеостазі та захворюваннях, таких як рак та вірусні інфекції. |
| **Organism** | Людина |
| **Tissue** | Ендоцервікс |
| **Disease** | Аденокарцинома |

## Характеристики

| | |
|---|---|
| **Age** | 30 років |
| **Gender** | Жінка |
| **Ethnicity** | Афроамериканець |
| **Morphology** | Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю |
| **Growth properties** | Адепт |

## Нормативні дані

| | |
|---|---|
| **Citation** | HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 (номер за каталогом Cytion 301575) |

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

| | |
|---|---|
| **Biosafety level** | 1 |
| **NCBI_TaxID** | 9606 |
| **CellosaurusAccession** | CVCL_B7FS |
| **Depositor** | Лабораторія Елленберга (EMBL) |
| **GMO Status** | ГМО-S1: Ця лінія HeLa Kyoto містить інтегровану в CRISPR мітку mEGFP в локусі RanBP2/Nup358, що дозволяє візуалізувати цитоплазматичні нитки ядерної пори. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах. |

## Біомолекулярні дані

| | |
|---|---|
| **Products** | EGFP (розширений зелений флуоресцентний білок) |

## Обробка

| | |
|---|---|
| **Culture Medium** | ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO3, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a) |
| **Supplements** | Додайте до середовища 10% FBS |
| **Dissociation Reagent** | Аккутаза |
| **Subculturing** | Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище. |
| **Fluid renewal** | 2-3 рази на тиждень |
| **Freeze medium** | Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу. |

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

### Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.

7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.

8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

### Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

### Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

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

| | |
|---|---|
| **Shipping Conditions** | Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання. |
| **Storage Conditions** | Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот. |

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

| | |
|---|---|
| **Sterility** | Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.<br><br>Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю. |