

**Células HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574****Información general****Description**

La línea celular HK-CRISPR-NUP205-mEGFP es una línea celular humana modificada genéticamente, diseñada para estudiar la nucleoporina 205 (NUP205) y su función en el complejo de poros nucleares. Modificada con CRISPR-Cas9 para marcar la NUP205 con proteína fluorescente verde mejorada monomérica (mEGFP), permite visualizar y rastrear la NUP205 en células vivas, lo que contribuye a la investigación sobre los mecanismos de transporte nuclear y la dinámica del complejo de poros nucleares.

La NUP205 es un componente fundamental del complejo de poros nucleares, que regula el transporte de moléculas entre el núcleo y el citoplasma. El marcaje de NUP205 con mEGFP permite a los investigadores observar su localización y comportamiento en tiempo real bajo un microscopio de fluorescencia, lo que hace que esta línea celular sea particularmente útil para estudiar los aspectos estructurales y funcionales de los complejos de poros nucleares y sus funciones en la expresión génica, el procesamiento del ARN y el ciclo celular.

La línea celular HK-CRISPR-NUP205-mEGFP es una herramienta poderosa para investigar los mecanismos de transporte nucleocitoplasmático y el papel del complejo de poros nucleares en la homeostasis celular. También es valiosa para explorar cómo las alteraciones en la función de los poros nucleares contribuyen a enfermedades como el cáncer y los trastornos neurodegenerativos, ofreciendo un modelo sólido para avanzar en nuestra comprensión del transporte nuclear y sus implicaciones para la salud humana.

**Organism** Humano**Tissue** Endocérvix**Disease** Adenocarcinoma**Metastatic site** Localización del tumor primario (endocérvix)**Applications** Biología del armazón del complejo de poros nucleares (NPC); imágenes de la nucleoporina del armazón NUP205; visualización de células vivas con mEGFP; microscopía de superresolución; validación de knock-in con CRISPR; transporte nucleocitoplasmático; organización estructural del NPC**Synonyms** HK-CRISPR-NUP205-mEGFP n.º 81**Características****Age** 30 años**Gender** Mujer**Ethnicity** Afroamericano**Morphology** Células de tipo epitelial con forma de piedra en mosaico

**Células HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574****Cell type** Células epiteliales**Growth properties** Adherente**Datos normativos****Citation** HK-CRISPR-NUP205-mEGFP (número de catálogo de Cytion 301574)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_UR49**Depositor** El Laboratorio Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Esta línea HeLa Kyoto contiene una fusión de mEGFP modificada mediante CRISPR en el locus NUP205 para la investigación de los poros nucleares a nivel de andamio. Esta clasificación se aplica únicamente en Alemania y puede variar en otros lugares.**Datos biomoleculares****Products** EGFP (proteína fluorescente verde mejorada)**Manejo****Culture Medium** DMEM, p/v: 4,5 g/L de glucosa, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, p/v: 1,0 mM de piruvato de sodio (número de artículo de Cytion 820300a)**Supplements** Añade al medio un 10 % de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfíralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.

## Células HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

**Fluid renewal** De 2 a 3 veces por semana

**Freeze medium** Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

### Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150 °C para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37 °C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiera todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 % de CO<sub>2</sub>, atmósfera humidificada.

### Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente -78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

## Células HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

### Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre  $-150$  y  $-196$  °C, aproximadamente. El almacenamiento a  $-80$  °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

## Control de calidad y análisis molecular

### Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.