

Células HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 | 301575**Información general****Description**

La línea celular HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 es un derivado genéticamente modificado de las células HeLa Kyoto, conocidas por su robustez y su uso generalizado en la investigación científica. Esta línea celular ha sido modificada mediante la tecnología CRISPR-Cas9 para expresar Nup358 marcado con mEGFP (proteína fluorescente verde mejorada monomérica), un componente crucial del complejo de poros nucleares (NPC). La Nup358, también conocida como RanBP2, desempeña un papel significativo en el transporte nucleocitoplasmático, el ensamblaje del huso mitótico y otros procesos celulares. La etiqueta mEGFP permite visualizar la Nup358, lo que facilita la observación en tiempo real de su dinámica e interacciones dentro de la célula.

Las células HeLa Kyoto, una sublínea de las células HeLa originales, se caracterizan por su adaptabilidad y su crecimiento estable en cultivo. El sistema CRISPR-Cas9 en esta línea celular permite una edición genómica precisa, lo que garantiza que la etiqueta mEGFP se fusione con exactitud a la proteína Nup358 sin alterar su función. Esto convierte a la línea celular HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 en una herramienta valiosa para estudiar los aspectos estructurales y funcionales del complejo de poros nucleares. Los investigadores pueden utilizar esta línea celular para comprender mejor los mecanismos que rigen el transporte nucleocitoplasmático y el papel de Nup358 en la homeostasis celular y en estados patológicos, como el cáncer y las infecciones virales.

Organism Humano**Tissue** Endocérvix**Disease** Adenocarcinoma**Características****Age** 30 años**Gender** Mujer**Ethnicity** Afroamericano**Morphology** Células de tipo epitelial con forma de piedra en mosaico**Growth properties** Adherente**Datos normativos****Citation** HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 (número de catálogo de Cytion 301575)

Células HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 | 301575**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FS**Depositor** El Laboratorio Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Esta línea HeLa Kyoto contiene una etiqueta mEGFP integrada mediante CRISPR en el locus RanBP2/Nup358, lo que permite visualizar los filamentos citoplasmáticos del poro nuclear. 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 NaHCO₃, 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.**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.

Células HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 | 301575

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % de CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

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 $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, aproximadamente. El almacenamiento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Células HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 | 301575

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.