

**Tế bào HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 | 301575****Thông tin chung****Description**

Dòng tế bào HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 là một biến thể được biến đổi gen từ dòng tế bào HeLa Kyoto, nổi tiếng với độ bền vững và được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu khoa học. Dòng tế bào này đã được sửa đổi bằng công nghệ CRISPR-Cas9 để biểu hiện Nup358 được gắn thẻ mEGFP (Protein Phát Quang Xanh Tăng Cường dạng đơn phân tử), một thành phần quan trọng của phức hợp lỗ nhân (NPC). Nup358, còn được gọi là RanBP2, đóng vai trò quan trọng trong vận chuyển nhân-chất lỏng, lắp ráp sợi phân bào và các quá trình tế bào khác. Thẻ mEGFP cho phép quan sát Nup358, giúp theo dõi động học và tương tác của nó trong tế bào theo thời gian thực.

Tế bào HeLa Kyoto, một dòng con của tế bào HeLa gốc, được đặc trưng bởi khả năng thích nghi và tăng trưởng ổn định trong môi trường nuôi cấy. Hệ thống CRISPR-Cas9 trong dòng tế bào này cho phép chỉnh sửa gen chính xác, đảm bảo nhãn mEGFP được gắn chính xác vào protein Nup358 mà không làm gián đoạn chức năng của nó. Điều này khiến dòng tế bào HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 trở thành công cụ quý giá để nghiên cứu các khía cạnh cấu trúc và chức năng của phức hợp lỗ nhân. Các nhà nghiên cứu có thể sử dụng dòng tế bào này để hiểu rõ hơn về các cơ chế điều chỉnh vận chuyển nhân-chất tế bào và vai trò của Nup358 trong sự cân bằng nội môi tế bào và các trạng thái bệnh lý, như ung thư và nhiễm virus.

**Organism**

Con người

**Tissue**

Nội cổ tử cung

**Disease**

Ung thư biểu mô tuyến

**Đặc điểm****Age**

30 năm

**Gender**

Nữ

**Ethnicity**

Người Mỹ gốc Phi

**Morphology**

Tế bào có hình dạng giống biểu mô với cấu trúc dạng đá mozaic

**Growth properties**

Người tuân thủ

**Dữ liệu quy định****Citation**

HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 (Số catalog của Cytion: 301575)

**Biosafety level**

1

**Tế bào HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 | 301575****NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_B7FS**Depositor** Phòng thí nghiệm Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Dòng tế bào HeLa Kyoto này chứa một thẻ mEGFP được tích hợp bằng CRISPR tại vị trí RanBP2/Nup358, cho phép quan sát các sợi tế bào chất của lỗ nhân. Phân loại này chỉ áp dụng trong phạm vi Đức và có thể khác nhau ở các khu vực khác.**Dữ liệu sinh học phân tử****Products** EGFP (Protein huỳnh quang xanh lá cây tăng cường)**Xử lý****Culture Medium** DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)**Supplements** Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.**Fluid renewal** 2 đến 3 lần mỗi tuần**Freeze medium** Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

**Tế bào HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 | 301575****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới  $-150^{\circ}\text{C}$  để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước  $37^{\circ}\text{C}$  với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở  $300 \times g$  trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , môi trường ẩm.

**Flask Coating**

Không có

**Freezing  
Procedure**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng  $-78^{\circ}\text{C}$  trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

**Shipping  
Conditions**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng  $-78^{\circ}\text{C}$  trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

## Tế bào HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 | 301575

### Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng  $-150$  đến  $-196$  °C. Việc bảo quản ở  $-80$  °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

## Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

### Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.