# HK-CRISPR-mEGFP-Nup358

301575

## ALGEMENE INFORMATIE

### Beschrijving

De HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 cellijn is een genetisch gemanipuleerde afgeleide van HeLa Kyoto cellen, bekend om hun robuustheid en wijdverbreid gebruik in wetenschappelijk onderzoek. Deze cellijn is gemodificeerd met CRISPR-Cas9-technologie om mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) gemerkt Nup358, een cruciaal onderdeel van het nucleaire poriëncomplex (NPC), tot expressie te brengen. Nup358, ook bekend als RanBP2, speelt een belangrijke rol in nucleocytoplasmatisch transport, de assemblage van mitotische spindels en andere cellulaire processen. De mEGFP tag maakt de visualisatie van Nup358 mogelijk, waardoor real-time observatie van de dynamiek en interacties binnen de cel mogelijk wordt.
HeLa Kyoto-cellen, een sublijn van de oorspronkelijke HeLa-cellen, worden gekenmerkt door hun aanpassingsvermogen en stabiele groei in cultuur. Het CRISPR-Cas9 systeem in deze cellijn maakt precieze genomische bewerking mogelijk en zorgt ervoor dat de mEGFP tag nauwkeurig met het Nup358 eiwit wordt versmolten zonder de functie ervan te verstoren. Dit maakt de HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 cellijn een waardevol hulpmiddel voor het bestuderen van de structurele en functionele aspecten van het nucleaire poriëncomplex. Onderzoekers kunnen deze cellijn gebruiken om inzicht te krijgen in de mechanismen die het nucleocytoplasmatisch transport regelen en de rol van Nup358 in cellulaire homeostase en ziektebeelden, zoals kanker en virale infecties.

| | |
|---|---|
| **Weefsel** | Endocervix |
| **Ziekte** | Adenocarcinoom |

## CLASSIFICATIE

| | |
|---|---|
| **Organisme** | Mens |
| **Seks** | Vrouw |
| **Groei-eigenschappen** | Aanhanger |
| **GGO-status** | GMO-S1 |

### Details over de GGO-status

GMO-S1: This HeLa Kyoto line contains a CRISPR-integrated mEGFP tag at the RanBP2/Nup358 locus, enabling visualization of cytoplasmic filaments of the nuclear pore. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

| | |
|---|---|
| **Bioveiligheidsniveau** | 1 |

## KENMERKEN

| | |
|---|---|
| **Morfologie** | Epitheelachtige cellen met mozaïeksteenvorm |

## IDENTIFICATIEGEGEVENS

### Bronvermelding

HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 (Cytion catalogusnummer 301575)

| | |
|---|---|
| **NCBI-belastingnummer** | 9606 |
| **Cellosaurus** | CVCL_B7FS |
| **Inlegger** | Het Ellenberg Lab (EMBL) |

## EXPRESSIE EN VATBAARHEID

**Producten**

EGFP (verbeterd groen fluorescerend eiwit)

## BEHANDELING EN KWEEK

**Kweekmedium**

DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)

| | |
|---|---|
| **Incubatieomgeving** | 37°C, 5%CO2, bevochtigde atmosfeer. |

**Supplementen**

Vul het medium aan met 10% FBS

| | |
|---|---|
| **Dissociatiereagens** | Accutase |

**Heruitplanten**

Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

| | |
|---|---|
| **Vloeistofverversing** | 2 tot 3 keer per week |

**Ontdooien en kweken**

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

## KWALITEITSCONTROLE EN CRYOPRESERVATIE

**Onvruchtbaarheid**

Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.
Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

| | |
|---|---|
| **Kweekmedium invriezen** | Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen. |

**Opslagvoorwaarden**

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

### Verzendvoorwaarden

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

## DONATEUR

| | |
|---|---|
| **Leeftijd van de donor** | 30 jaar |
| **Etnische afkomst** | Afro-Amerikaan |

## JURIDISCHE EN VEILIGHEIDSASPECTEN

### Veiligheidsmaatregelen

Wanneer men van plan is om een cryovial in vloeibare stikstof op te slaan om later te ontdooien, is het verplicht om strenge veiligheidsmaatregelen in acht te nemen. Passende beschermende handschoenen en kleding zijn essentieel en het gebruik van een gezichtsmasker of veiligheidsbril is vereist tijdens het overbrengen van bevroren monsters naar of uit de tank met vloeibare stikstof. Dit is om het risico op letsel door mogelijke cryoviale explosies bij het verwijderen te beperken, wat kan resulteren in de projectie van scherpe fragmenten.

### Garantie

Bij Cytion staan we achter de kwaliteit en levensvatbaarheid van onze producten.
We garanderen dat onze cellen levensvatbaar zijn bij het begin van de kweek gedurende 60 dagen na verzending vanuit onze faciliteiten.
We verzekeren dat alle materialen voldoen aan de specificaties beschreven in het analysecertificaat en/of productblad
Raadpleeg voor volledige informatie onze <a href=""'/Wie-zijn-wij/Garantie/"" hreflang=""'x-default"">Garantieverklaring

| | |
|---|---|
| **Er gelden overeenkomsten met derden** | Yes |

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB