HK-CRISPR-mEGFP-Nup358

301575

GENERAL INFORMATION

Description

HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 □胞系是 HeLa Kyoto □胞經基因工程改造而成的衍生物，HeLa Kyoto □胞以其穩健性及在科學研究中的廣泛應用而聞名。該□胞系經由 CRISPR-Cas9 技術進行改造，以表達帶有 mEGFP（單體增強型綠色螢光蛋白）標記的 Nup358，後者是核孔複合體（NPC）的關鍵組成部分。 Nup358（亦稱 RanBP2）在核質運輸、有絲分裂紡錘體組裝及其他 □胞過程中扮演重要角色。mEGFP 標籤可使 Nup358 可視化，便於實時觀察其在□胞內的動態變化與相互作用。

HeLa Kyoto □胞作為原始 HeLa □胞的亞系，以其適應性強及體外培養時生長穩定等特性著稱。此 □胞系中的 CRISPR-Cas9 系統可實現精確的基因組編輯，確保 mEGFP 標籤能精準地與 Nup358 蛋白融合，同時不影響其功能。 這使得 HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 □胞系成為研究核孔複合體結構與功能方面的寶貴工具。 研究人員可利用此□胞系，深入了解調控核質運輸的機制，以及 Nup358 在□胞內穩態及疾病狀態（如癌症和病毒感染）中所扮演的角色。

Tissue	子宮頸內口
Disease	腺癌

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

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.

Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	呈馬賽克狀石塊形狀的類上皮 □胞

IDENTIFIERS

Citation

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

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FS
Depositor	艾倫伯格實驗室（EMBL）

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Products

EGFP（增強型綠色螢光蛋白）

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

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

DMEM，含 4.5 g/L 葡萄糖、4 mM L-谷氨醯胺、3.7 g/L $NaHCO_3$ 及 1.0 mM 丙酮酸鈉（Cytion 產品編號 820300a）

Incubation atmosphere	37°C，5% CO_2，加濕環境。

Supplements

在培養基中加入 10% 的胎牛血清（FBS）

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

從貼壁□胞中移除舊培養基，並用不含鈣和鎂的 PBS洗滌□胞。T25培養瓶使用3-5毫升PBS，T75培養瓶則使用5-10毫升。 接著，用 Accutase 完全覆蓋□胞，T25 培養瓶使用 1–2 毫升，T75 培養瓶則使用 2.5 毫升。將□胞於室溫下孵育 8–10 分鐘，使其脫附。 孵育後，將□胞與 10 毫升培養基輕柔混合以使其重新懸浮，然後以 300xg 離心 3 分鐘。棄去上清液，將□胞重新懸浮於新鮮培養基中，並轉移至已預先加入新鮮培養基的新培養瓶中。

Fluid renewal	每週 2 至 3 次

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

透過基於 PCR 的檢測及基於發光原理的支原體檢測方法，排除支原體污染的可能性。
為確保無□菌、真菌或酵母菌污染，每日均會對□胞培養物進行目視檢查。

Freeze medium	作為冷凍保存培養基，我們使用完全生長培養基（含 FBS）+ 10% DMSO 以確保解凍後的存活率，或使用 CM-1（Cytion 型號 800100），該培養基含有經優化的滲透保護劑和代謝穩定劑，可提升 □胞恢復率並減輕冷凍誘導的壓力。

Storage conditions

若需長期保存，請將試管置於溫度約為 −150 至 −196 °C 的氣相液氮中。僅在轉移至液氮之前，可將試管暫時存放於 −80 °C 環境中，作為短期過渡步驟。

Shipping conditions

冷凍保存的□胞系會以乾冰冷藏，並裝於經驗證的隔熱包裝中，包裝內含有足夠的冷媒，以確保在運輸過程中溫度維持在約 −78 °C。收到貨物後，請立即檢查容器，並盡快將試管轉移至適當的儲存場所。

DONOR

Donor age	30年
Ethnicity	非裔美國人

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

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

若計劃將低溫試管存放在液態氮中以供日後解凍，必須嚴格遵守相關安全措施。 必須穿戴適當的防護手套和防護服，且在將冷凍樣本移入或移出液氮罐時，必須佩戴口罩或安全護目鏡。此舉旨在降低因取出時冷凍試管可能發生爆炸而導致受傷的風險，此類爆炸可能造成尖銳碎片飛濺。

Warranty

在 Cytion，我們對產品的品質與存活率提供保障。
我們保證，自本公司設施出貨後
60 天內，我們的□胞在培養開始時仍具存活能力。
我們保證所有材料均符合
分析證明書及／或產品說明書中所載的規格。
詳情請參閱我們的
《保固聲明》。

Third-party agreements apply	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