

Cellules HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655

Informations générales

Description

La lignée cellulaire HK-CRISPR-Nup93-mEGFP est dérivée des cellules Hela Kyoto et conçue à l'aide de la technologie CRISPR/Cas9 pour exprimer la Nup93 fusionnée avec la protéine fluorescente verte améliorée monomérique (mEGFP). Cela permet de visualiser en temps réel Nup93 dans l'enveloppe nucléaire, ce qui facilite l'étude du transport nucléaire-cytoplasmique, de l'assemblage du complexe du pore nucléaire et de l'intégrité de l'enveloppe nucléaire.

Nup93 joue un rôle crucial dans le maintien de l'architecture et de la fonction du complexe du pore nucléaire. L'étiquette mEGFP permet de suivre sa dynamique et ses interactions, ce qui facilite les techniques d'imagerie à haute résolution comme la microscopie confocale. Cette lignée cellulaire aide les chercheurs à comprendre la régulation des gènes, le trafic nucléocytoplasmique et les réponses au stress cellulaire.

La lignée cellulaire HK-CRISPR-Nup93-mEGFP est une ressource précieuse pour l'étude de la biologie cellulaire et des maladies associées au complexe du pore nucléaire, contribuant à des stratégies thérapeutiques potentielles ciblant les voies de transport nucléaire. Elle est particulièrement utile pour explorer le rôle de l'enveloppe nucléaire dans la fonction cellulaire et la pathologie.

Organism Humain

Tissue Endocol

Disease Adénocarcinome

Caractéristiques

Age 30 ans

Gender Femme

Ethnicity Afro-américain

Morphology Cellules de type épithélial avec une forme de pierre en mosaïque

Growth properties Adhérent

Données réglementaires

Citation HK-CRISPR-Nup93-mEGFP (numéro de catalogue Cytion 300655)

Biosafety level 1

Cellules HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655

NCBI_TaxID 9606**Depositor** Le laboratoire Ellenberg (EMBL)**GMO Status** OGM-S1 : Cette lignée HeLa Kyoto contient un knock-in mEGFP au niveau du locus endogène Nup93 pour les études sur la structure du pore nucléaire. Cette classification ne s'applique qu'à l'Allemagne et peut différer dans d'autres pays.

Données biomoléculaires

Protein expression Nup153, étiquette mEGFP

Manipulation

Culture Medium DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO₃, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Cellules HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.