

Cellules HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Informations générales

Description

La lignée cellulaire HK-CRISPR-NUP205-mEGFP est une lignée cellulaire humaine génétiquement modifiée conçue pour étudier la nucléopore 205 (NUP205) et son rôle dans le complexe du pore nucléaire. Modifiée par CRISPR-Cas9 pour marquer NUP205 avec une protéine fluorescente verte améliorée monomérique (mEGFP), elle permet la visualisation et le suivi de NUP205 dans les cellules vivantes, ce qui facilite la recherche sur les mécanismes de transport nucléaire et la dynamique du complexe du pore nucléaire.

NUP205 est un composant essentiel du complexe du pore nucléaire, qui régule le transport des molécules entre le noyau et le cytoplasme. Le marquage de NUP205 avec mEGFP permet aux chercheurs d'observer sa localisation et son comportement en temps réel sous un microscope à fluorescence, ce qui rend cette lignée cellulaire particulièrement utile pour étudier les aspects structurels et fonctionnels des complexes du pore nucléaire et leurs rôles dans l'expression des gènes, le traitement de l'ARN et le cycle cellulaire.

La lignée cellulaire HK-CRISPR-NUP205-mEGFP est un outil puissant pour étudier les mécanismes de transport nucléocytoplasmique et le rôle du complexe du pore nucléaire dans l'homéostasie cellulaire. Elle est également précieuse pour étudier comment les perturbations de la fonction du pore nucléaire contribuent à des maladies telles que le cancer et les troubles neurodégénératifs, offrant ainsi un modèle solide pour faire progresser notre compréhension du transport nucléaire et de ses implications pour la santé humaine.

Organism Humain

Tissue Endocol

Disease Adénocarcinome

Synonyms HK-CRISPR-NUP205-mEGFP #81

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

Cellules HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

Citation	HK-CRISPR-NUP205-mEGFP (numéro de catalogue Cytion 301574)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_UR49
Depositor	Le laboratoire Ellenberg (EMBL)
GMO Status	OGM-S1 : Cette lignée HeLa Kyoto contient une fusion mEGFP modifiée par CRISPR au niveau du locus NUP205 pour la recherche sur les pores nucléaires au niveau de l'échafaudage. Cette classification ne s'applique qu'à l'Allemagne et peut différer dans d'autres pays.

Données biomoléculaires

Products	EGFP (protéine fluorescente verte renforcée)
-----------------	----------------------------------------------

Manipulation

Culture Medium	DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO ₃ , 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.
Split ratio	Un rapport de 1:3 est recommandé
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine

Cellules HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

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 cryogénéisation.

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

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

Cellules HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

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.

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 de qualité / Profil génétique / HLA

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.