

Cellules HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 | 300676**Informations générales****Description**

La lignée cellulaire HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 est une variante génétiquement modifiée de la lignée cellulaire Hela Kyoto, dérivée de cellules humaines de cancer du col de l'utérus. Cette lignée cellulaire a été modifiée à l'aide de la technologie Zinc Finger Nuclease (ZFN) pour intégrer la protéine fluorescente verte améliorée monomérique (mEGFP) dans le gène Nup107, un composant crucial du complexe du pore nucléaire (NPC). Nup107 joue un rôle clé dans le transport nucléocytoplasmique, essentiel à l'homéostasie cellulaire et à la régulation des gènes.

L'intégration de la mEGFP permet la visualisation et le suivi de Nup107, ce qui facilite les études sur la dynamique et les fonctions du NPC. Ce marquage fluorescent aide à comprendre la distribution spatiale et temporelle de Nup107 et ses interactions avec d'autres nucléoporines et facteurs de transport. La lignée cellulaire HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 est inestimable pour l'étude des mécanismes de transport cellulaire et de la physiopathologie des maladies.

Cette lignée cellulaire constitue un modèle robuste pour l'étude du fonctionnement complexe du NPC et de ses implications sur la santé et la maladie, en combinant la stabilité génétique et l'origine humaine des cellules Hela Kyoto avec une ingénierie génétique avancée.

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-2xZFN-mEGFP-Nup107 (numéro de catalogue Cytion 300676)

Cellules HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 | 300676**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_VL12**Depositor** Le laboratoire Ellenberg (EMBL)**GMO Status** OGM-S1 : Cette lignée HeLa Kyoto contient une fusion mEGFP intégrée par ZFN au locus Nup107 permettant l'imagerie du complexe du pore nucléaire. Cette classification ne s'applique qu'à l'Allemagne et peut différer dans d'autres pays.**Données biomoléculaires****Products** EGFP (protéine fluorescente verte renforcée) Nup107**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.**Split ratio** Un rapport de 1:3 est recommandé**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine**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.

Cellules HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 | 300676

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 continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, 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-2xZFN-mEGFP-Nup107 | 300676

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.