

Cellules HK-CRISPR-Nup188-mEGFP | 300657**Informations générales****Description**

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP est une lignée cellulaire HeLa Kyoto génétiquement modifiée. Elle utilise la technologie CRISPR/Cas9 pour intégrer la mEGFP (protéine fluorescente verte améliorée monomérique) au locus Nup188. Nup188 est une protéine nucléopore clé impliquée dans le complexe du pore nucléaire, essentiel pour le transport de molécules entre le noyau et le cytoplasme. Le marquage mEGFP permet la visualisation en temps réel de Nup188, ce qui facilite l'étude de la dynamique et de la fonction du complexe du pore nucléaire.

Cette lignée cellulaire est particulièrement utile pour les chercheurs qui s'intéressent au transport nucléaire et à la biologie du complexe du pore nucléaire. Son marquage fluorescent permet d'observer Nup188 dans diverses conditions, y compris les traitements médicamenteux et les modifications génétiques. Les applications comprennent le criblage à haut contenu, l'imagerie des cellules vivantes et d'autres techniques basées sur la fluorescence, fournissant des informations précieuses sur le transport nucléocytoplasmique et l'intégrité de l'enveloppe nucléaire.

Organism

Humain

Tissue

Endocol

Disease

Adénocarcinome

Metastatic site

Sans objet (lignée dérivée de HeLa Kyoto ; le site tumoral primaire est l'endocol)

Applications

Biologie du complexe des pores nucléaires (NPC) ; transport nucléocytoplasmique ; dynamique et fonction de Nup188 ; imagerie par fluorescence de l'enveloppe nucléaire sur cellule vivante ; criblage à haut contenu ; études de validation de knock-in par CRISPR ; évaluation d'inhibiteurs du transport nucléaire

Caractéristiques**Age**

30 ans

Gender

Femme

Ethnicity

Afro-américain

Morphology

Cellules de type épithélial avec une forme de pierre en mosaïque

Cell type

Cellules épithéliales

Growth properties

Adhérent

Cellules HK-CRISPR-Nup188-mEGFP | 300657**Données réglementaires**

Citation	HK-CRISPR-Nup188-mEGFP (numéro de catalogue Cytion 300657)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Non attribué (HK-CRISPR-Nup188-mEGFP est une lignée dérivée de HeLa Kyoto modifiée par CRISPR ; lignée parentale : HeLa Kyoto CVCL_1922)
Depositor	Le laboratoire Ellenberg (EMBL)
GMO Status	OGM-S1 : Cette lignée HeLa Kyoto contient un knock-in CRISPR de mEGFP au locus Nup188, permettant la visualisation de la dynamique de l'échafaudage du pore nucléaire. Cette classification ne s'applique qu'à l'Allemagne et peut différer dans d'autres pays.

Données biomoléculaires

Protein expression	Nup188, étiquette mEGFP
---------------------------	-------------------------

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.

Cellules HK-CRISPR-Nup188-mEGFP | 300657

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.

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%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Cellules HK-CRISPR-Nup188-mEGFP | 300657

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 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.