

**Cellules HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574****Renseignements généraux****Description**

La lignée cellulaire HK-CRISPR-NUP205-mEGFP est une lignée cellulaire humaine génétiquement modifiée, conçue pour étudier la nucléoporine 205 (NUP205) et son rôle dans le complexe des pores nucléaires. Modifiée à l'aide de la technologie CRISPR-Cas9 afin de marquer la NUP205 avec une protéine fluorescente verte améliorée monomérique (mEGFP), elle permet la visualisation et le suivi de la NUP205 dans des cellules vivantes, facilitant ainsi la recherche sur les mécanismes de transport nucléaire et la dynamique du complexe des pores nucléaires.

La NUP205 est un composant essentiel du complexe des pores nucléaires, régulant le transport des molécules entre le noyau et le cytoplasme. Le marquage de la NUP205 par la mEGFP permet aux chercheurs d'observer sa localisation et son comportement en temps réel au microscope à fluorescence, ce qui rend cette lignée cellulaire particulièrement utile pour l'étude des aspects structurels et fonctionnels des complexes de pores nucléaires ainsi que de leurs rôles dans l'expression génique, le traitement de l'ARN et le cycle cellulaire.

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

**Organism** Humain**Tissue** Endocervix**Disease** Adénocarcinome**Metastatic site** Site de la tumeur primaire (endocervix)**Applications** Biologie de la structure du complexe des pores nucléaires (NPC); imagerie de la nucléoporine NUP205, composante de cette structure; visualisation de cellules vivantes à l'aide de la protéine mEGFP; microscopie à super-résolution; validation du knock-in par CRISPR; transport nucléocytoplasmique; organisation structurelle du NPC**Synonyms** HK-CRISPR-NUP205-mEGFP n° 81**Caractéristiques****Age** 30 ans**Gender** Femme**Ethnicity** Afro-Américain

**Cellules HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574****Morphology** Cellules de type épithélial présentant une forme de pierre en mosaïque**Cell type** Cellules épithéliales**Growth properties** Adepte**Données réglementaires****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** GMO-S1 : Cette lignée HeLa Kyoto contient une fusion mEGFP modifiée par CRISPR au locus NUP205, destinée à la recherche sur les pores nucléaires au niveau de la structure de soutien. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut varier ailleurs.**Données biomoléculaires****Products** EGFP (protéine fluorescente verte améliorée)**Manipulation****Culture Medium** DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)**Supplements** Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture**Dissociation Reagent** Accutase

## Cellules HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

**Subculturing** Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine

**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

### Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

## Cellules HK-CRISPR-NUP205-mEGFP | 301574

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 % de CO<sub>2</sub>, atmosphère humidifiée.

### Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

### Storage Conditions

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

## Contrôle de la 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 par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.