

Cellules HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP | 301573

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP a été génétiquement modifiée pour la recherche cellulaire de pointe. Dérivée de cellules HeLa Kyoto, elle utilise la technologie CRISPR/Cas9 pour marquer le gène CAP-D3 avec la protéine fluorescente verte améliorée monomérique (mEGFP). La protéine CAP-D3 joue un rôle crucial dans l'organisation et la ségrégation chromosomiques au cours de la division cellulaire. Le marqueur mEGFP permet de visualiser en temps réel la dynamique de la protéine CAP-D3.

Cette lignée cellulaire constitue un outil précieux pour l'étude de la stabilité et de l'intégrité chromosomiques, en particulier dans le cadre de maladies comme le cancer. Le marqueur fluorescent permet une imagerie à haute résolution de cellules vivantes ainsi qu'une analyse détaillée de CAP-D3 tout au long du cycle cellulaire. Les chercheurs peuvent utiliser ce modèle pour des études de localisation protéique et des essais d'interaction moléculaire.

Organism Humain

Tissue Endocervix

Disease Adénocarcinome

Metastatic site Site de la tumeur primaire (endocervix)

Applications Biologie du complexe Condensin II; imagerie de la sous-unité CAP-D3; organisation et ségrégation chromosomiques; dynamique mitotique; imagerie de cellules vivantes; microscopie à fluorescence haute résolution; validation du knock-in par CRISPR

Synonyms HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP n° 16, HK CRISPR CAP-D3-mEGFP

Caractéristiques

Age 30 ans

Gender Femme

Ethnicity Afro-Américain

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

Cell type Cellules épithéliales

Growth properties Adepte

Cellules HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP | 301573

Données réglementaires

Citation	HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP (numéro de catalogue Cytion 301573)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_UR44
Depositor	Le laboratoire Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1 : Cette lignée HeLa Kyoto contient une insertion de mEGFP générée par la technique CRISPR au locus CAP-D3, destinée à des études sur la condensine. 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 ₃ , p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)
Supplements	Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture
Dissociation Reagent	Accutase
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

Cellules HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP | 301573

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.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO₂, 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.

Cellules HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP | 301573

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.