HK-CRISPR-Nup188-mEGFP

300657

GENERAL INFORMATION

Description

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP est une lignée cellulaire HeLa Kyoto génétiquement modifiée. Elle utilise la technologie CRISPR/Cas9 pour intégrer la protéine mEGFP (protéine fluorescente verte améliorée monomérique) au locus Nup188. La Nup188 est une protéine nucléoporine clé impliquée dans le complexe des pores nucléaires, essentiel au transport des molécules entre le noyau et le cytoplasme. Le marquage par la mEGFP permet la visualisation en temps réel de la Nup188, facilitant ainsi l'étude de la dynamique et de la fonction du complexe des pores nucléaires.
Cette lignée cellulaire est particulièrement utile pour les chercheurs qui s'intéressent au transport nucléaire et à la biologie du complexe des pores nucléaires. Son marquage fluorescent permet l'observation de la Nup188 dans diverses conditions, notamment lors de traitements médicamenteux et de modifications génétiques. Parmi ses applications, on retrouve le criblage à haut contenu, l'imagerie de cellules vivantes et d'autres techniques basées sur la fluorescence, fournissant ainsi des informations précieuses sur le transport nucléocytoplasmique et l'intégrité de l'enveloppe nucléaire.

Tissue	Endocervix
Disease	Adénocarcinome
Metastatic site	Sans objet (dérivé de la lignée 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

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

GMO-S1: This HeLa Kyoto line contains a CRISPR knock-in of mEGFP at the Nup188 locus, enabling visualization of nuclear pore scaffold dynamics. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

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

IDENTIFIERS

Citation

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP (numéro de catalogue Cytion 300657)

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	Not assigned (HK-CRISPR-Nup188-mEGFP is a CRISPR-modified HeLa Kyoto derivative; parental HeLa Kyoto CVCL_1922)
Depositor	Le laboratoire Ellenberg (EMBL)

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

Nup188, marqueur mEGFP

HANDLING AND CULTURE

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)

Incubation atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

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.

Thawing and culturing

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

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.

Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal 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.

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.

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.

DONOR

Donor age	30 ans
Ethnicity	Afro-Américain

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Lorsqu'on prévoit entreposer un cryotube dans de l'azote liquide en vue d'une décongélation ultérieure, il est impératif de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Le port de gants et de vêtements de protection appropriés est essentiel, et l'utilisation d'un masque facial ou de lunettes de protection est obligatoire lors du transfert d'échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d'azote liquide. Cette précaution vise à réduire le risque de blessure causé par d'éventuelles explosions de cryotubes lors de leur retrait, pouvant entraîner la projection de fragments coupants.

Warranty

Chez Cytion, nous garantissons la qualité et la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant 60 jours à compter de leur expédition depuis nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le certificat d'analyse et/ou la fiche technique du produit.
Pour plus de détails, veuillez consulter notre déclaration de garantie.

Third-party agreements apply	Yes