HK-CRISPR-mEGFP-Nup358

301575

GENERAL INFORMATION

Description

La lignée cellulaire HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 est un dérivé génétiquement modifié des cellules HeLa Kyoto, réputées pour leur robustesse et leur utilisation généralisée dans la recherche scientifique. Cette lignée cellulaire a été modifiée à l'aide de la technologie CRISPR-Cas9 afin d'exprimer la protéine Nup358 marquée par la mEGFP (protéine fluorescente verte améliorée monomérique), un composant essentiel du complexe des pores nucléaires (NPC). La protéine Nup358, également connue sous le nom de RanBP2, joue un rôle important dans le transport nucléocytoplasmique, l'assemblage du fuseau mitotique et d'autres processus cellulaires. Le marqueur mEGFP permet de visualiser la protéine Nup358, facilitant ainsi l'observation en temps réel de sa dynamique et de ses interactions au sein de la cellule.
Les cellules HeLa Kyoto, une sous-lignée des cellules HeLa originales, se caractérisent par leur adaptabilité et leur croissance stable en culture. Le système CRISPR-Cas9 utilisé dans cette lignée cellulaire permet une modification génomique précise, garantissant que le marqueur mEGFP est correctement fusionné à la protéine Nup358 sans en perturber la fonction. Cela fait de la lignée cellulaire HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 un outil précieux pour l'étude des aspects structurels et fonctionnels du complexe des pores nucléaires. Les chercheurs peuvent utiliser cette lignée cellulaire pour mieux comprendre les mécanismes régissant le transport nucléocytoplasmique ainsi que le rôle de Nup358 dans l'homéostasie cellulaire et dans des états pathologiques, tels que le cancer et les infections virales.

Tissue	Endocervix
Disease	Adénocarcinome

CLASSIFICATION

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

GMO status details

GMO-S1: This HeLa Kyoto line contains a CRISPR-integrated mEGFP tag at the RanBP2/Nup358 locus, enabling visualization of cytoplasmic filaments of the nuclear pore. 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

IDENTIFIERS

Citation

HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 (numéro de catalogue Cytion 301575)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FS
Depositor	Le laboratoire Ellenberg (EMBL)

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Products

EGFP (protéine fluorescente verte améliorée)

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.

Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine

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