

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107-celler | 300676

Generel information

Description

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107-cellelinjen er en genetisk konstrueret variant af Hela Kyoto-cellelinjen, der stammer fra humane livmoderhalskræftceller. Denne cellelinje er blevet modificeret ved hjælp af Zinc Finger Nuclease (ZFN)-teknologi for at integrere monomert Enhanced Green Fluorescent Protein (mEGFP) i Nup107-genet, en afgørende komponent i kerneporekomplekset (NPC). Nup107 spiller en nøglerolle i nukleocytoplasmatisk transport, der er afgørende for cellulær homeostase og genregulering.

Integrationen af mEGFP muliggør visualisering og sporing af Nup107, hvilket letter undersøgelser af NPC's dynamik og funktioner. Denne fluorescerende mærkning hjælper med at forstå Nup107's rumlige og tidsmæssige fordeling og dens interaktioner med andre nukleoporiner og transportfaktorer. HK-2xZFN-mEGFP-Nup107-cellelinjen er uvurderlig til forskning i cellulære transportmekanismer og sygdomsopatofysiologi.

Denne cellelinje giver en robust model til at studere NPC's udviklede funktion og dens sundheds- og sygdomsimplicationer, idet den kombinerer Hela Kyoto-cellerne genetiske stabilitet og menneskelige oprindelse med avanceret genteknologi.

Organism Menneske

Tissue Endocervix

Disease Adenokarcinom

Karakteristika

Age 30 år

Gender Kvinde

Ethnicity Afroamerikaner

Morphology Epitel-lignende celler med mosaikstenform

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 (Cytion katalognummer 300676)

Biosafety level 1

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107-celler | 300676**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_VL12**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linje indeholder en ZFN-integreret mEGFP-fusion ved Nup107-locus, der muliggør billeddannelse af kerneporekomplekset. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Products** EGFP (forstærket grønt fluorescerende protein) Nup107**Håndtering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmoreskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107-celler | 300676

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107-celler | 300676

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.