

Κύτταρα HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 | 300676

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 είναι μια γενετικά τροποποιημένη παραλλαγή της κυτταρικής σειράς HeLa Kyoto, που προέρχεται από ανθρώπινα κύτταρα καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Αυτή η κυτταρική σειρά έχει τροποποιηθεί με τη χρήση της τεχνολογίας νουκλεάσης με δάκτυλο ψευδαργύρου (ZFN) για την ενσωμάτωση μονομερούς ενισχυμένης πράσινης φθορίζουσας πρωτεΐνης (mEGFP) στο γονίδιο Nup107, ένα κρίσιμο συστατικό του συμπλέγματος των πυρηνικών πόρων (NPC). Το Nup107 διαδραματίζει βασικό ρόλο στην πυρηνοκυτταροπλασματική μεταφορά, απαραίτητη για την κυτταρική ομοίωση και τη γονιδιακή ρύθμιση.

Η ενσωμάτωση του mEGFP επιτρέπει την οπτικοποίηση και την παρακολούθηση του Nup107, διευκολύνοντας τις μελέτες σχετικά με τη δυναμική και τις λειτουργίες του NPC. Αυτή η φθορίζουσα σήμανση βοηθά στην κατανόηση της χωρικής και χρονικής κατανομής της Nup107 και των αλληλεπιδράσεών της με άλλες νουκλεοπορίνες και παράγοντες μεταφοράς. Η κυτταρική σειρά HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 είναι ανεκτίμητη για την έρευνα των κυτταρικών μηχανισμών μεταφοράς και της παθοφυσιολογίας των ασθενειών.

Αυτή η κυτταρική σειρά παρέχει ένα ισχυρό μοντέλο για τη μελέτη των περίπλοκων λειτουργιών του NPC και των επιπτώσεών του στην υγεία και τις ασθένειες, συνδυάζοντας τη γενετική σταθερότητα και την ανθρώπινη προέλευση των κυττάρων HeLa Kyoto με προηγμένη γενετική μηχανική.

Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Ενδοτράχηλος
Disease	Αδενοκαρκίνωμα

Χαρακτηριστικά

Age	30 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Αφροαμερικανός
Morphology	Επιθηλιακά κύτταρα με ψηφιδωτό σχήμα πέτρας
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 (αριθμός καταλόγου Cytion 300676)
-----------------	---

Κύτταρα HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 | 300676

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_VL12**Depositor** Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Αυτή η γραμμή HeLa Kyoto περιέχει μια σύντηξη mEGFP ενσωματωμένη με ZFN στον τόπο Nup107 που επιτρέπει την απεικόνιση του συμπλόκου των πυρηνικών πόρων. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.**Βιομοριακά δεδομένα****Products** EGFP (ενισχυμένη πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη) Nup107**Χειρισμός****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 | 300676**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 | 300676

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.