

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 sejtek | 300676

Általános információk

Description

A HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 sejtvonala a HeLa kiotói sejtvonala genetikailag módosított változata, amely emberi méhnyakráksejtekből származik. Ezt a sejtvonala cink-ujj nukleáz (ZFN) technológiával módosították, hogy a monomer, fokozottan zöld fluoreszkáló fehérjét (mEGFP) integrálják a Nup107 génbe, amely a nukleáris pórus komplex (NPC) egyik fontos összetevője. A Nup107 kulcsszerepet játszik a nukleocitoplazmatikus transzportban, amely elengedhetetlen a sejtek homeosztázisához és a génszabályozáshoz.

A mEGFP integráció lehetővé teszi a Nup107 vizualizálását és nyomon követését, megkönnyítve az NPC dinamikájának és funkcióinak vizsgálatát. Ez a fluoreszcens jelölés segít megérteni a Nup107 térbeli és időbeli eloszlását, valamint kölcsönhatásait más nukleoporinokkal és transzportfaktorokkal. A HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 sejtvonala felbecsülhetetlen értékű a sejtek transzportmechanizmusainak és a betegségek patofiziológiájának kutatásához.

Ez a sejtvonala robusztus modellt biztosít az NPC bonyolult működésének, valamint az egészségre és betegségekre gyakorolt hatásának tanulmányozásához, ötvözve a HeLa Kyoto sejtek genetikai stabilitását és humán eredetét fejlett géntechnológiával.

Organism Emberi

Tissue Endocervix

Disease Adenokarcinóma

Jellemzők

Age 30 év

Gender Női

Ethnicity Afroamerikai

Morphology Epithelszerű, mozaikos kő alakú sejtek

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 (Cytion katalógusszám: 300676)

Biosafety level 1

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 sejtek | 300676**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_VL12**Depositor** Az Ellenberg Labor (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ez a HeLa Kyoto vonal ZFN-integrált mEGFP fúziót tartalmaz a Nup107 lokuszon, amely lehetővé teszi a nukleáris pórus komplex képzését. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.**Biomolekuláris adatok****Products** EGFP (Fokozott zöld fluoreszcens fehérje) Nup107**A kezelése****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvastás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

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

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 sejtek | 300676

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.