

Cellule HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 | 300676**Informazioni generali****Description**

La linea cellulare HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 è una variante geneticamente modificata della linea cellulare Hela Kyoto, derivata da cellule di cancro cervicale umano. Questa linea cellulare è stata modificata utilizzando la tecnologia Zinc Finger Nuclease (ZFN) per integrare la proteina verde fluorescente potenziata monomerica (mEGFP) nel gene Nup107, un componente cruciale del complesso del poro nucleare (NPC). Nup107 svolge un ruolo chiave nel trasporto nucleocitoplasmatico, essenziale per l'omeostasi cellulare e la regolazione genica.

L'integrazione di mEGFP consente la visualizzazione e il tracciamento di Nup107, facilitando gli studi sulla dinamica e sulle funzioni della NPC. La marcatura fluorescente aiuta a comprendere la distribuzione spaziale e temporale di Nup107 e le sue interazioni con altre nucleoporine e fattori di trasporto. La linea cellulare HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 è preziosa per la ricerca sui meccanismi di trasporto cellulare e sulla fisiopatologia delle malattie.

Questa linea cellulare fornisce un modello robusto per studiare l'intricato funzionamento della NPC e le sue implicazioni per la salute e le malattie, combinando la stabilità genetica e l'origine umana delle cellule Hela Kyoto con l'ingegneria genetica avanzata.

Organism Umano**Tissue** Endocervice**Disease** Adenocarcinoma**Caratteristiche****Age** 30 anni**Gender** Donna**Ethnicity** Afroamericano**Morphology** Cellule simili a quelle epiteliali con forma di pietra a mosaico**Growth properties** Aderente**Dati normativi****Citation** HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 (numero di catalogo Cytion 300676)**Biosafety level** 1

Cellule HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 | 300676

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VL12
Depositor	Il laboratorio Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: questa linea HeLa Kyoto contiene una fusione mEGFP integrata con ZFN nel locus Nup107 che consente di visualizzare il complesso del poro nucleare. Questa classificazione si applica solo in Germania e può variare altrove.

Dati biomolecolari

Products	EGFP (proteina fluorescente verde potenziata) Nup107
-----------------	--

Manipolazione

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO ₃ , w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)
-----------------------	---

Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
---------------------	---

Split ratio	Si raccomanda un rapporto di 1:3
--------------------	----------------------------------

Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
----------------------	-------------------------------

Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.
----------------------	--

Cellule HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 | 300676

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 | 300676

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.