

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 ląstelės | 300676

Bendra informacija

Description

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 ląstelių linija yra genetiškai modifikuota Hela Kyoto ląstelių linijos, gautos iš žmogaus gimdos kaklelio vėžio ląstelių, atmaina. Ši ląstelių linija modifikuota naudojant cinko pirštų nukleazės (ZFN) technologiją, kad į Nup107 geną, kuris yra esminis branduolio porų komplekso (NPC) komponentas, būtų integruotas monomimerinis sustiprintas žaliai fluorescuojantis baltymas (mEGFP). Nup107 atlieka pagrindinį vaidmenį nukleocitoplazminiame pernešime, kuris būtinas ląstelių homeostazei ir genų reguliavimui.

mEGFP integracija leidžia vizualizuoti ir sekoti Nup107, palengvina NPC dinamikos ir funkcijų tyrimus. Šis fluorescencinis žymėjimas padeda suprasti Nup107 erdvinį ir laikinį pasiskirstymą ir jo sąveiką su kitais nukleoporiniais ir transportavimo veiksniais. HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 ląstelių linija yra neįkainojama tiriant ląstelių transporto mechanizmus ir ligų patofiziologiją.

Ši ląstelių linija yra patikimas modelis sudėtingai NPC veiklai ir jos poveikiui sveikatai bei ligoms tirti, derinant "Hela Kyoto" ląstelių genetinį stabilumą ir žmogaus kilmę su pažangia genų inžinerija.

Organism Žmogus

Tissue Endocervix

Disease Adenokarcinoma

Charakteristikos

Age 30 metų

Gender Moteris

Ethnicity Afroamerikietis

Morphology | epitelį panašios ląstelės su mozaikos formos akmenukais

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 (Cytion katalogo numeris 300676)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 ląstelės | 300676**CellosaurusAccession** CVCL_VL12**Depositor** Ellenbergo laboratorija (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: šioje HeLa Kyoto linijoje yra ZFN integruota mEGFP sintezė ties Nup107 lokusu, leidžianti vaizduoti branduolio porų kompleksą. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.**Biomolekuliniai duomenys****Products** EGFP (sustiprintas žaliasis fluorescencinis baltymas) Nup107**Tvarkymas****Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 ląstelės | 300676

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 ląstelės | 300676

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.