

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 šūnas | 300676

Vispārīga informācija

Description

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 šūnu līnija ir ģenētiski modificēts Hela Kyoto šūnu līnijas variants, kas iegūts no cilvēka dzemdes kakla vēža šūnām. Šī šūnu līnija ir modificēta, izmantojot cinka pirkstu nukleāzes (ZFN) tehnoloģiju, lai Nup107 gēnā, kas ir būtiska kodola poru kompleksa (NPC) sastāvdaļa, integrētu monomēru uzlaboto zaļo fluorescējošo proteīnu (mEGFP). Nup107 ir galvenā loma nukleocito-plazmas transportā, kas ir būtisks šūnu homeostāzei un gēnu regulēšanai.

MEGFP integrācija ļauj vizualizēt un izsekot Nup107, atvieglojot NPC dinamikas un funkciju izpēti. Šis fluorescējošais marķējums palīdz izprast Nup107 telpisko un laika sadalījumu un tā mijiedarbību ar citiem nukleoporīniem un transporta faktoriem. HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 šūnu līnija ir nenovērtējama šūnu transporta mehānismu un slimību patofizioloģijas izpētē.

Šī šūnu līnija nodrošina stabilu modeli NPC sarežģītās darbības un tās ietekmes uz veselību un slimībām izpētei, apvienojot Hela Kyoto šūnu ģenētisko stabilitāti un cilvēka izcelsmi ar progresīvu gēnu inženieriju.

Organism Cilvēks

Tissue Endocervix

Disease Adenokarcinoma

Raksturojums

Age 30 gadi

Gender Sievietes

Ethnicity Afroamerikānis

Morphology Epitēlijveidīgas šūnas ar mozaikveida akmens formu

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 (Cytion kataloga numurs 300676)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 šūnas | 300676

CellosaurusAccession CVCL_VL12**Depositor** Ellenberga laboratorija (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Šī HeLa Kyoto līnija satur ZFN integrētu mEGFP saplūšanu Nup107 lokusā, kas ļauj iegūt kodolporu kompleksa attēlu. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.**Biomolekulārie dati****Products** EGFP (uzlabots zaļais fluorescējošais proteīns) Nup107**Darbs ar****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 šūnas | 300676

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 šūnas | 300676

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.