

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107-cellen | 300676

Algemene informatie

Description

De HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 cellijn is een genetisch gemodificeerde variant van de Hela Kyoto cellijn, afgeleid van menselijke baarmoederhalskankercellen. Deze cellijn is gemodificeerd met behulp van Zinc Finger Nuclease (ZFN)-technologie om monomeer Enhanced Green Fluorescent Protein (mEGFP) te integreren in het Nup107-gen, een cruciaal onderdeel van het nucleaire poriecomplex (NPC). Nup107 speelt een sleutelrol in nucleocytoplasmatisch transport, essentieel voor cellulaire homeostase en genregulatie.

De mEGFP-integratie maakt visualisatie en tracering van Nup107 mogelijk, wat studies naar de dynamica en functies van het NPC vergemakkelijkt. Deze fluorescente tagging helpt bij het begrijpen van de ruimtelijke en temporele distributie van Nup107 en zijn interacties met andere nucleoporines en transportfactoren. De HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 cellijn is van onschatbare waarde voor onderzoek naar cellulaire transportmechanismen en pathofysiologie van ziekten.

Deze cellijn biedt een robuust model voor het bestuderen van de ingewikkelde werking van de NPC en de implicaties voor gezondheid en ziekte, door de genetische stabiliteit en menselijke oorsprong van Hela Kyoto-cellen te combineren met geavanceerde genetische manipulatie.

Organism Mens

Tissue Endocervix

Disease Adenocarcinoom

Kenmerken

Age 30 jaar

Gender Vrouw

Ethnicity Afro-Amerikaan

Morphology Epitheelachtige cellen met mozaïeksteenvorm

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 (Cytion catalogusnummer 300676)

Biosafety level 1

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107-cellen | 300676

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_VL12**Depositor** Het Ellenberg Lab (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Deze HeLa Kyoto-lijn bevat een ZFN-geïntegreerde mEGFP-fusie op de Nup107-locus die beeldvorming van het nucleaire poriecomplex mogelijk maakt. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders afwijken.**Biomoleculaire gegevens****Products** EGFP (verbeterd groen fluorescerend eiwit) Nup107**Omgaan met****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.**Split ratio** Een verhouding van 1:3 wordt aanbevolen**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107-cellen | 300676

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107-cellen | 300676

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.