

HK-2xZFN-Smc4-mEGFP-celler | 301576

Allmän information

Description

Cellinjen HK-2xZFN-Smc4-mEGFP härstammar från HeLa Kyoto-celler och har konstruerats med hjälp av zinkfingernukleas (ZFN)-teknik för att rikta in sig på Smc4-genen. Smc4 är avgörande för kromosomkondensering och segregering under celledelning. Denna modifiering hjälper forskare att studera kromosomernas dynamik och stabilitet.

Denna cellinje har också taggen mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein), vilket möjliggör visualisering av cellulära processer i realtid. MEGFP-taggen underlättar observationen av Smc4-uttryck och lokalisering, vilket underlättar screening med hög genomströmning och avbildning av levande celler. Cellinjen HK-2xZFN-Smc4-mEGFP är ett värdefullt verktyg för att studera kromosomalt beteende och genfunktion.

Organism Människan

Tissue Endocervix

Disease Adenocarcinom

Egenskaper

Age 30 år

Gender Kvinna

Ethnicity Afroamerikan

Morphology Epitelliknande celler med mosaikstensform

Growth properties Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation HK-2xZFN-Smc4-mEGFP (Cytion katalognummer 301576)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_B7FT

HK-2xZFN-Smc4-mEGFP-celler | 301576

Depositor Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Denna HeLa Kyoto-linje innehåller en ZFN-konstruerad mEGFP-tagga på Smc4 för studier av dynamiken i kromosomkondensationen. Denna klassificering gäller endast i Tyskland och kan skilja sig åt på andra ställen.

Biomolekylära data

Products EGFP (förstärkt grönt fluorescerande protein)

Hantering

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements Komplettera mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Split ratio Ett förhållande på 1:5 i början och upp till 1:15 efter etablering av kulturen rekommenderas

Fluid renewal 2 till 3 gånger per vecka

Freeze medium Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

HK-2xZFN-Smc4-mEGFP-celler | 301576

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

HK-2xZFN-Smc4-mEGFP-celler | 301576

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.