

Bunky HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 | 300676**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 je geneticky upravený variant bunkovej línie Hela Kyoto, odvodenej z buniek ľudského karcinómu krčka maternice. Táto bunková línia bola modifikovaná pomocou technológie nukleázy zinkových prstov (ZFN) s cieľom integrovať monométny vylepšený zelený fluorescenčný proteín (mEGFP) do génu Nup107, ktorý je kľúčovou zložkou komplexu jadrových pórov (NPC). Nup107 zohráva kľúčovú úlohu v nukleocytoplazmatickom transporte, ktorý je nevyhnutný pre homeostázu buniek a reguláciu génov.

Integrácia mEGFP umožňuje vizualizáciu a sledovanie Nup107, čo uľahčuje štúdie dynamiky a funkcií NPC. Toto fluorescenčné značenie pomáha pochopiť priestorovú a časovú distribúciu Nup107 a jeho interakcie s inými nukleoporínmi a transportnými faktormi. Bunková línia HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 je neoceniteľná pri výskume mechanizmov bunkového transportu a patofyziológie chorôb.

Táto bunková línia poskytuje robustný model na štúdium zložitého fungovania NPC a jeho dôsledkov na zdravie a choroby, pričom kombinuje genetickú stabilitu a ľudský pôvod buniek Hela Kyoto s pokročilým genetickým inžinierstvom.

Organism Ľudské**Tissue** Endocervix**Disease** Adenokarcinóm**Charakteristika****Age** 30 rokov**Gender** Ženy**Ethnicity** Afroameričan**Morphology** Epitelové bunky s mozaikovým tvarom kameňa**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 (katalógové číslo Cytion 300676)**Biosafety level** 1

Bunky HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 | 300676**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_VL12**Depositor** Ellenbergova laboratória (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Táto línia HeLa Kyoto obsahuje ZFN-integrovanú mEGFP fúziu v lokuse Nup107, ktorá umožňuje zobrazovanie komplexu jadrových pórov. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.**Biomolekulárne údaje****Products** EGFP (Enhanced Green Fluorescent Protein) Nup107**Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 | 300676

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 | 300676

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.