

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 celice | 300676

Splošne informacije

Description

Celična linija HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 je gensko spremenjena različica celične linije Hela Kyoto, ki izhaja iz človeških celic raka materničnega vratu. Ta celična linija je bila spremenjena s tehnologijo nukleaze cinkovega prsta (ZFN) za integracijo monomernega izboljšanega zeleno fluorescentnega proteina (mEGFP) v gen Nup107, ki je ključna sestavina kompleksa jedrnih por (NPC). Nup107 ima ključno vlogo pri nukleocitoplazemskem transportu, ki je bistven za celično homeostazo in uravnavanje genov.

Integracija mEGFP omogoča vizualizacijo in sledenje Nup107, kar olajša študije o dinamiki in funkcijah NPC. To fluorescenčno označevanje pomaga razumeti prostorsko in časovno porazdelitev Nup107 ter njegove interakcije z drugimi nukleoporini in transportnimi dejavniki. Celična linija HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 je neprecenljiva za raziskovanje mehanizmov celičnega transporta in patofiziologije bolezni.

Ta celična linija je zanesljiv model za preučevanje zapletenega delovanja NPC ter njegovih vplivov na zdravje in bolezni, saj združuje genetsko stabilnost in človeški izvor celic Hela Kyoto z naprednim genskim inženiringom.

Organism Človek

Tissue Endocervix

Disease Adenokarcinom

Značilnosti

Age 30 let

Gender Ženske

Ethnicity Afroameričan

Morphology Epitelnim celicam podobne celice z obliko mozaičnih kamenčkov

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 (katalogska številka Cytion 300676)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 celice | 300676**CellosaurusAccession** CVCL_VL12**Depositor** Laboratorij Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ta linija HeLa Kyoto vsebuje z ZFN integrirano fuzijo mEGFP na lokaciji Nup107, ki omogoča slikanje kompleksa jedrnih por. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.**Biomolekularni podatki****Products** EGFP (okrepljeni zeleni fluorescenčni protein) Nup107**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 celice | 300676

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

HK-2xZFN-mEGFP-Nup107 celice | 300676

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.