

Клітини НК-2xZFN-Smc4-mEGFP | 301576

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія НК-2xZFN-Smc4-mEGFP отримана з клітин HeLa Kyoto та сконструйована з використанням технології нуклеази цинкового пальця (ZFN) для націлювання на ген Smc4. Smc4 має вирішальне значення для конденсації та сегрегації хромосом під час поділу клітин. Ця модифікація допомагає дослідникам вивчати динаміку та стабільність хромосом.

Ця клітинна лінія також має мономерну мітку розширеного зеленого флуоресцентного білка (mEGFP), що дозволяє візуалізувати клітинні процеси в реальному часі. Мітка mEGFP полегшує спостереження за експресією та локалізацією Smc4, допомагаючи у високопродуктивному скринінгу та візуалізації живих клітин. Клітинна лінія НК-2xZFN-Smc4-mEGFP є цінним інструментом для вивчення хромосомної поведінки та функції генів.

Organism

Людина

Tissue

Ендоцервікс

Disease

Аденокарцинома

Характеристики

Age

30 років

Gender

Жінка

Ethnicity

Афроамериканець

Morphology

Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю

Growth properties

Адепт

Нормативні дані

Citation

НК-2xZFN-Smc4-mEGFP (номер за каталогом Cytion 301576)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_B7FT

Клітини НК-2xZFN-Smc4-mEGFP | 301576

Depositor Лабораторія Елленберга (EMBL)

GMO Status ГМО-S1: Ця лінія HeLa Kyoto містить ZFN-інженерний mEGFP-тег на Smc4 для вивчення динаміки конденсації хромосом. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Products EGFP (розширений зелений флуоресцентний білок)

Обробка

Culture Medium ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO₃, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)

Supplements Додайте до середовища 10% FBS

Dissociation Reagent Аккутаза

Subculturing Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Fluid renewal 2-3 рази на тиждень

Freeze medium Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини НК-2xZFN-Smc4-mEGFP | 301576**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини НК-2xZFN-Smc4-mEGFP | 301576

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.