

Клетки НК-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

Обща информация

Description

Клетъчната линия НК-ZFN-AURKB-mEGFP е генетично модифициран човешки клетъчен модел, предназначен да експресира протеина AURKB (Aurora Kinase B), слят с mEGFP (мономерен подобрен зелен флуоресцентен протеин), като се използва технологията ZFN (Zinc Finger Nuclease). AURKB е серин/треонин киназа, която играе ключова роля в митотичната хромозомна сегрегация, цитокинезата и регулирането на контролната точка на митотичното вретено. Сливането с mEGFP позволява визуализиране в реално време на активността и локализацията на AURKB в клетката, което улеснява подробните изследвания на динамичното ѝ поведение по време на клетъчното делене.

Тази клетъчна линия служи като мощен инструмент за изследователи, които проучват молекулярните механизми на митозата и специфичните функции на AURKB. Включването на mEGFP дава възможност за провеждане на флуоресцентни анализи и за визуализиране на живи клетки, което дава представа за пространствено-времето разпределение на AURKB. Използването на технологията ZFN осигурява прецизно геномно интегриране, като поддържа верността на експресията на AURKB. Този модел е особено ценен в изследванията на рака, където AURKB често е свръхекспресиран и свързан с туморогенезата, което го прави потенциална цел за терапевтични интервенции.

Organism

Човек

Tissue

Ендоцервикс

Disease

Аденокарцином

Metastatic site

Място на първичния тумор (ендоцервикс)

Applications

Биология на киназата Aurora B (AURKB); визуализация на митотични кинази; хромозомна сегрегация; контролен пункт на вретеното; визуализация на живи клетки; валидиране на редактирането на генома чрез ZFN; биология на рака

Характеристики

Age

30 години

Gender

Жена

Ethnicity

Афроамериканец

Morphology

Епителиални клетки с форма на мозаечно камъче

Cell type

Епителни клетки

Клетки НК-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

Growth properties

Придържаци се

Регулаторни данни

Citation НК-ZFN-AURKB-mEGFP (каталожен номер 300173 на Cytion)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_VL13**Depositor** Лабораторията на Елнбърг (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Тази линия HeLa Kyoto съдържа ZFN-интегриран mEGFP синтез в ендогенния AURKB locus за изобразяване на митотични кинази. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Products EGFP (подобрен зелен флуоресцентен протеин)

Работа с

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.**Fluid renewal** 2 до 3 пъти седмично

Клетки НК-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173**Freeze medium**

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Клетки НК-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микопlasма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микопlasма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.