Product sheet

Клетки HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry | 300270

Обща информация

Description	Клетъчната линия HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry, получена от клетките HeLa Kyoto, е специализиран модел, използван в изследванията в областта на клетъчната биология. Тя е генетично разработена да експресира киназа на Aurora B (AURKB), маркирана с мономерен подобрен зелен флуоресцентен протеин (mEGFP), и вътрешен центромерен протеин (INCENP), маркиран с mCherry. Тези модификации позволяват на изследователите да проследяват динамиката и взаимодействията на тези протеини по време на клетъчното делене. Киназата Aurora B е от съществено значение за сегрегацията на хромозомите и цитокинезата, докато INCENP е критичен компонент на комплекса Chromosomal Passenger Complex (CPC), координиращ митотичния прогрес. Това двойно флуоресцентно маркиране осигурява мощен инструмент за изобразяване на живи клетки, позволяващ подробно изследване на разпределението на протеините по време на клетъчния цикъл. Клетъчната линия HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry е ценна за изследване на митотичната регулация, хромозомната стабилност и митотичната контролна точка. Прецизността на цинковите пръстови нуклеази (ZFN), използвани за генетични модификации, гарантира точността на този модел, което го прави идеален за високото качество на изследванията в областта на биологията на рака и терапевтичните разработки.
Organism	Човек
Tissue	Ендоцервикс
Disease	Аденокарцином
Metastatic site	Място на първичния тумор (ендоцервикс)
Applications	Биология на хромозомния пассажерски комплекс (CPC); динамика на киназата Aurora B и INCENP; визуализация на митозата в живи клетки; двуцветно флуоресцентно проследяване; хромозомна сегрегация; цитокинеза; митотичен контролен пункт; валидиране на редактирането на генома чрез ZFN
Synonyms	HK-ZFN-AURKB-mEGFP,ZFN-INCENP-mCherry

Характеристики

Age	30 години
Gender	Жена
Ethnicity	Афроамериканец
Morphology	Епителиални клетки с форма на мозаечно камъче

Клетки HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry | 300270

Cell type	Епителни клетки
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry (каталожен номер 300270 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VL14
Depositor	Лабораторията на Елънбърг (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Тази двуцветна линия HeLa Kyoto съдържа конструкти AURKB-mEGFP и INCENP-mCherry, създадени с помощта на ZFN, за изследвания на хромозомния пасажерски комплекс. Тази класификация важи 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 ресуспендирате, 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.

Клетки HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry | 300270

Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
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 съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °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°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 разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x 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°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.
Flask Coating	Няма

Клетки HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry | 300270

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 в утвърдени, изолирани опаковки 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 и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.