

HK-ZFN-AURKB-mEGFP-celler | 300173

Generel information

Description

HK-ZFN-AURKB-mEGFP-cellelinjen er en genetisk konstrueret human cellemodel, der er designet til at udtrykke AURKB (Aurora Kinase B)-proteinet fusioneret med mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) ved hjælp af Zinc Finger Nuclease (ZFN)-teknologi. AURKB er en serin/threonin-kinase, der spiller en afgørende rolle i mitotisk kromosomadskillelse, cytokinese og regulering af den mitotiske spindels kontrolpunkt. Fusionen med mEGFP giver mulighed for realtidsvisualisering af AURKB's aktivitet og lokalisering i cellen, hvilket muliggør detaljerede undersøgelser af dens dynamiske adfærd under celledelingen.

Denne cellelinje fungerer som et stærkt værktøj for forskere, der undersøger de molekylære mekanismer i mitose og AURKB's specifikke funktioner. Inkorporeringen af mEGFP muliggør fluorescensbaserede analyser og billeddannelse i levende celler, hvilket giver indsigt i den spatiotemporale fordeling af AURKB. Brugen af ZFN-teknologi sikrer præcis genomisk integration og opretholder troværdigheden af AURKB-ekspressionen. Denne model er særlig værdifuld inden for kræftforskning, hvor AURKB ofte er overudtrykt og forbundet med tumorigenese, hvilket gør den til et potentielt mål for terapeutiske indgreb.

Organism

Menneske

Tissue

Endocervix

Disease

Adenokarcinom

Karakteristika

Age

30 år

Gender

Kvinde

Ethnicity

Afroamerikaner

Morphology

Epitel-lignende celler med mosaikstenform

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation

HK-ZFN-AURKB-mEGFP (Cytion katalognummer 300173)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

HK-ZFN-AURKB-mEGFP-celler | 300173**CellosaurusAccession** CVCL_VL13**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linje indeholder en ZFN-integreret mEGFP-fusion ved det endogene AURKB-locus til mitotisk kinaseafbildning. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Products** EGFP (forstærket grønt fluorescerende protein)**Håndtering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Freeze medium** Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

HK-ZFN-AURKB-mEGFP-celler | 300173

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

For at opnå optimal vedhæftning og levedygtighed efter optøning anbefaler vi at bruge **kollagenbelagte kolber eller plader**.

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

HK-ZFN-AURKB-mEGFP-celler | 300173

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.