

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

General information

Description

HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry-cellelinjen, der stammer fra HeLa Kyoto-celler, er en specialiseret model, der bruges i cellebiologisk forskning. Den er blevet genetisk manipuleret til at udtrykke Aurora B-kinase (AURKB) mærket med monomert forstærket grønt fluorescerende protein (mEGFP) og Indre Centromer Protein (INCENP) mærket med mCherry. Disse modifikationer gør det muligt for forskere at spore disse proteiners dynamik og interaktion under celledeling. Aurora B-kinase er afgørende for kromosomadskillelse og cytokinese, mens INCENP er en kritisk komponent i Chromosomal Passenger Complex (CPC), der koordinerer mitotisk progression.

Denne dobbelte fluorescerende mærkning giver et stærkt værktøj til billeddannelse i levende celler, hvilket giver mulighed for detaljeret undersøgelse af proteindistributionen under celleyklusen. HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry-cellelinjen er værdifuld til forskning i mitotisk regulering, kromosomal stabilitet og det mitotiske checkpoint. Præcisionen af zinkfingernukleaser (ZFN'er), der bruges til genetiske modifikationer, sikrer nøjagtigheden af denne model, hvilket gør den ideel til high-fidelity-undersøgelser inden for kræftbiologi og terapeutisk udvikling.

Organism

Menneske

Tissue

Endocervix

Disease

Adenokarcinom

Synonyms

HK-ZFN-AURKB-mEGFP,ZFN-INCENP-mCherry

Karakteristika

Age

30 år

Gender

Kvinde

Ethnicity

Afroamerikaner

Morphology

Epitel-lignende celler med mosaikstenform

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation

HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry (Cytion katalognummer 300270)

HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry-celler | 300270**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_VL14**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-dobbeltfarvede linje indeholder ZFN-konstruerede AURKB-mEGFP- og INCENP-mCherry-konstruktioner til studier af kromosompassagerkomplekser. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes 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 kryopræservationsmedium 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 kryoinduceret stress.

HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry-celler | 300270**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 °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 °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 x 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°C, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

**Freezing
Procedure**

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.

**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.

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

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.