Product sheet

Κύτταρα HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά HK-ZFN-AURKB-mEGFP είναι ένα γενετικά τροποποιημένο ανθρώπινο κυτταρικό μοντέλο που έχει σχεδιαστεί για να εκφράζει την πρωτεΐνη AURKB (Aurora Kinase B) συγχωνευμένη με mEGFP (μονομερής ενισχυμένη πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη) χρησιμοποιώντας την τεχνολογία Zinc Finger Nuclease (ZFN). Η AURKB είναι μια κινάση σερίνης/θρεονίνης που διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στον μιτωτικό διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων, στην κυτταροκίνηση και στη ρύθμιση του σημείου ελέγχου της μιτωτικής ατράκτου. Η σύντηξη με το mEGFP επιτρέπει την οπτικοποίηση σε πραγματικό χρόνο της δραστηριότητας και του εντοπισμού της AURKB εντός του κυττάρου, διευκολύνοντας λεπτομερείς μελέτες της δυναμικής συμπεριφοράς της κατά τη διάρκεια της κυτταρικής διαίρεσης. Αυτή η κυτταρική σειρά χρησιμεύει ως ένα ισχυρό εργαλείο για τους ερευνητές που διερευνούν τους μοριακούς μηχανισμούς της μίτωσης και τις ειδικές λειτουργίες του AURKB. Η ενσωμάτωση του mEGFP επιτρέπει δοκιμασίες με βάση τον φθορισμό και την απεικόνιση ζωντανών κυττάρων, παρέχοντας πληροφορίες σχετικά με τη χωροχρονική κατανομή της AURKB. Η χρήση της τεχνολογίας ZFN εξασφαλίζει ακριβή γονιδιωματική ενσωμάτωση, διατηρώντας την πιστότητα της έκφρασης του AURKB. Το μοντέλο αυτό είναι ιδιαίτερα πολύτιμο στην έρευνα για τον καρκίνο, όπου το AURKB συχνά υπερεκφράζεται και συνδέεται με την καρκινογένεση, καθιστώντας το δυνητικό στόχο για θεραπευτικές παρεμβάσεις.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Ενδοτράχηλος
Disease	Αδενοκαρκίνωμα
Metastatic site	Θέση πρωτογενούς όγκου (ενδοτράχηλος)
Applications	Βιολογία της κινάσης Aurora B (AURKB) · απεικόνιση μιτωτικών κινασών · διαχωρισμός χρωμοσωμάτων · σημείο ελέγχου του μικροσπειροειδούς · απεικόνιση ζωντανών κυττάρων · επικύρωση της γονιδιακής επεξεργασίας με ZFN · βιολογία του καρκίνου

Χαρακτηριστικά

Age	30 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Αφροαμερικανός
Morphology	Επιθηλιακά κύτταρα με ψηφιδωτό σχήμα πέτρας
Cell type	Επιθηλιακά κύτταρα

Κύτταρα HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HK-ZFN-AURKB-mEGFP (αριθμός καταλόγου Cytion 300173)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VL13
Depositor	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η γραμμή HeLa Kyoto περιέχει μια σύντηξη mEGFP ενσωματωμένη με ZFN στον ενδογενή τόπο AURKB για την απεικόνιση μιτωτικής κινάσης. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

Βιομοριακά δεδομένα

Products	EGFP (ενισχυμένη πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη)

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Κύτταρα HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.
Thawing and Culturing Cells	1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά. 2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια. 3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου. 4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα. 5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά. 6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης. 7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων. 8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Flask Coating	Κανένα

Κύτταρα HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.