

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 κίνηση 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

Χαρακτηριστικά**Age**

30 χρόνια

Gender

Γυναίκα

Ethnicity

Αφροαμερικανός

Morphology

Επιθηλιακά κύτταρα με ψηφιδωτό σχήμα πέτρας

Growth properties

Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα**Citation**

HK-ZFN-AURKB-mEGFP (αριθμός καταλόγου Cytion 300173)

Κύτταρα HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 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**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.

Κύτταρα HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173**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 κρυσταλλικό 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 κρυσταλλικό 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 $300 \times g$ 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% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρυσταλλοποιημένες 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.

Κύτταρα HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

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.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

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.