

Células HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173**Información general****Description**

La línea celular HK-ZFN-AURKB-mEGFP es un modelo celular humano diseñado genéticamente para expresar la proteína AURKB (Aurora Quinasa B) fusionada con mEGFP (proteína verde fluorescente monomérica mejorada) mediante la tecnología Zinc Finger Nuclease (ZFN). AURKB es una serina/treonina quinasa que desempeña un papel crucial en la segregación cromosómica mitótica, la citocinesis y la regulación del punto de control del huso mitótico. La fusión con mEGFP permite la visualización en tiempo real de la actividad y localización de AURKB dentro de la célula, facilitando estudios detallados de su comportamiento dinámico durante la división celular.

Esta línea celular constituye una potente herramienta para los investigadores que estudian los mecanismos moleculares de la mitosis y las funciones específicas de AURKB. La incorporación de mEGFP permite realizar ensayos basados en fluorescencia e imágenes de células vivas, proporcionando información sobre la distribución espacio-temporal de AURKB. El uso de la tecnología ZFN garantiza una integración genómica precisa, manteniendo la fidelidad de la expresión de AURKB. Este modelo es particularmente valioso en la investigación del cáncer, donde AURKB se sobreexpresa con frecuencia y se relaciona con la tumorigénesis, lo que la convierte en una diana potencial para intervenciones terapéuticas.

Organism Humano**Tissue** Endocervix**Disease** Adenocarcinoma**Características****Age** 30 años**Gender** Mujer**Ethnicity** Afroamericanos**Morphology** Células de aspecto epitelial con forma de piedra en mosaico**Growth properties** Adherente**Datos reglamentarios****Citation** HK-ZFN-AURKB-mEGFP (número de catálogo de Cytion 300173)**Biosafety level** 1

Células HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_VL13**Depositor** Laboratorio Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Esta línea HeLa Kyoto contiene una fusión mEGFP integrada en ZFN en el locus endógeno AURKB para la obtención de imágenes de quinasas mitóticas. Esta clasificación sólo se aplica en Alemania y puede diferir en otros países.**Datos biomoleculares****Products** EGFP (proteína fluorescente verde mejorada)**Manejo de****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO₃, w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)**Supplements** Complementar el medio con un 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.**Split ratio** Se recomienda una proporción de 1:3**Fluid renewal** de 2 a 3 veces por semana**Freeze medium** Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés criointducido.

Células HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmósfera humidificada.

Flask Coating

Para una fijación y viabilidad óptimas tras la descongelación, recomendamos utilizar **matraces o placas recubiertos de colágeno**.

Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78°C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Células HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

Perfil de STR

PEZ6: CLS-145