

HK-ZFN-AURKB-mEGFP rakud | 300173

Üldine teave

Description

HK-ZFN-AURKB-mEGFP rakuliin on geneetiliselt muundatud inimese rakumudel, mis on loodud AURKB (Aurora Kinase B) valgu ekspresseerimiseks, mis on fusioonis mEGFP (monomeerne tõhustatud roheline fluorestseeruv valk), kasutades tsinksõrmenukleaasi (ZFN) tehnoloogiat. AURKB on seriin/treoniinkinaas, millel on oluline roll mitootilise kromosoomi segregatsioonis, tsütokineesis ja mitootilise spindli kontrollpunkti reguleerimises. Fusioon mEGFP-ga võimaldab AURKB aktiivsust ja lokaliseerimist rakus reaajas visualiseerida, hõlbustades selle dünaamilise käitumise üksikasjalikku uurimist raku jagunemise ajal.

See rakuliin on võimas vahend teadlastele, kes uurivad mitoosi molekulaarmehhanisme ja AURKB spetsiifilisi funktsioone. MEGFP lisamine võimaldab fluorestsentsil põhinevaid analüüse ja elusraku kujutamist, mis annab ülevaate AURKB ruumilis-ajalisest jaotumisest. ZFN-tehnoloogia kasutamine tagab täpse genoomse integratsiooni, säilitades AURKB ekspressiooni usaldusväarsuse. See mudel on eriti väärtuslik vähiuuringutes, kus AURKB on sageli üleekspresseeritud ja seotud kasvajate tekkimisega, mis muudab selle potentsiaalseks sihtmärgiks terapeutiliste sekkumiste jaoks.

Organism Inimene

Tissue Endocervix

Disease Adenokartsinoom

Omadused

Age 30 aastat

Gender Naised

Ethnicity Afroameeriklane

Morphology Epiteelilaadsed rakud, millel on mosaiikne kivikuju

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation HK-ZFN-AURKB-mEGFP (Cytioni katalooginumber 300173)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

HK-ZFN-AURKB-mEGFP rakud | 300173

CellosaurusAccession CVCL_VL13**Depositor** Ellenbergi labor (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: See HeLa Kyoto liin sisaldab ZFN-integreeritud mEGFP-fusiooni endogeenses AURKB-lookuses mitootilise kinaasi kujutamiseks. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.**Biomolekulaarsed andmed****Products** EGFP (tõhustatud roheline fluorestseeruv valk)**Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

HK-ZFN-AURKB-mEGFP rakud | 300173

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekekkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HK-ZFN-AURKB-mEGFP rakud | 300173

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.