

## HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry rakud | 300270

## Üldine teave

## Description

HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry rakuliin, mis on saadud HeLa Kyoto rakkudest, on rakubioloogilistes uuringutes kasutatav erimudel. See on geneetiliselt muundatud, et ekspresseerida Aurora B kinaasi (AURKB), mis on märgistatud monomeerse tugevdatud rohelise fluorestseeruva valguga (mEGFP), ja mCherryga märgistatud sisemise tsentromeeri valgu (INCENP). Need modifikatsioonid võimaldavad teadlastel jälgida nende valkude dünaamikat ja vastastikmõju raku jagunemise ajal. Aurora B kinaas on oluline kromosoomide segregatsiooniks ja tsütokineesiks, samas kui INCENP on kromosoomi reisijakompleksi (CPC) kriitiline komponent, mis koordineerib mitoosi kulgu.

Selline kahekordne fluorestseeriv märgistamine annab võimsa vahendi elusraku kujutamiseks, mis võimaldab üksikasjalikult uurida valkude jaotumist rakutsükli ajal. HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry rakuliin on väärtuslik mitootilise regulatsiooni, kromosomaalse stabiilsuse ja mitootilise kontrollpunkti uurimiseks. Geneetilisteks modifikatsioonideks kasutatavate tsinksõrmenukleaaside (ZFN) täpsus tagab selle mudeli täpsuse, mistõttu on see ideaalne vähibioloogia ja terapeutiliste ravimite väljatöötamise kõrge täpsusega uuringuteks.

**Organism** Inimene

**Tissue** Endocervix

**Disease** Adenokartsinoom

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

## 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/ZFN-INCENP-mCherry (Cytioni katalooginumbriga 300270)

## HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry rakud | 300270

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_VL14**Depositor** Ellenbergi labor (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: See HeLa Kyoto kaheväriline liin sisaldab ZFN-tehnoloogia abil loodud AURKB-mEGFP ja INCENP-mCherry konstruktsioone kromosoomide reisijate kompleksi uuringuteks. 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 NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel 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/ZFN-INCENP-mCherry rakud | 300270

### 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 raku suspensioon 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 söötme keskkond 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%  $\text{CO}_2$ , 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/ZFN-INCENP-mCherry rakud | 300270

### 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.