

HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry-solut | 300270

Yleisiä tietoja

Description

HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry-solulinja, joka on johdettu HeLa Kyoto -soluista, on erikoistunut malli, jota käytetään solubiologisessa tutkimuksessa. Se on geneettisesti muunnettu ilmentämään Aurora B -kinaasia (AURKB), joka on merkitty monomeerisellä tehostetulla vihreällä fluoresoivalla proteiinilla (mEGFP), ja Inner Centromere Protein (INCENP), joka on merkitty mCherryllä. Näiden muutosten ansiosta tutkijat voivat seurata näiden proteiinien dynamiikkaa ja vuorovaikutusta solun jakautumisen aikana. Aurora B -kinaasi on välttämätön kromosomien segregaatiolle ja sytokinesikselle, kun taas INCENP on kriittinen osa kromosomimatkustajakompleksia (Chromosomal Passenger Complex, CPC), joka koordinoi mitoosin etenemistä.

Tämä kaksoisfluoresoiva merkintä tarjoaa tehokkaan välineen elävien solujen kuvantamiseen, jonka avulla voidaan tutkia yksityiskohtaisesti proteiinien jakautumista solusyklin aikana. HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry-solulinja on arvokas mitoottisen säätelyn, kromosomistabiilisuuden ja mitoottisen tarkistuspisteen tutkimiseen. Geneettisiin muutoksiin käytettävien sinkkisormenukleaasien (ZFN) tarkkuus takaa tämän mallin tarkkuuden, joten se sopii erinomaisesti syöpäbiologian ja terapeuttisen kehittämisen korkean tarkkuuden tutkimuksiin.

Organism Ihminen

Tissue Endocervix

Disease Adenokarsinooma

Synonyms HK-ZFN-AURKB-mEGFP,ZFN-INCENP-mKirsikka

Ominaisuudet

Age 30 vuotta

Gender Nainen

Ethnicity Afroamerikkalainen

Morphology Epiteelin kaltaiset solut, joilla on mosaiikkimaisen kiven muotoinen rakenne

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry (Cytionin luettelonumero 300270)

HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry-solut | 300270

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_VL14**Depositor** Ellenbergin laboratorio (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Tämä HeLa Kyoto -kaksivärinen linja sisältää ZFN-muokatut AURKB-mEGFP- ja INCENP-mCherry-rakenteet kromosomien matkustajakompleksien tutkimuksia varten. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.**Biomolekyylitiedot****Products** EGFP (tehostettu vihreä fluoresoiva proteiini)**Käsittely****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelunumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry-solut | 300270

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry-solut | 300270

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.