

HK-ZFN-AURKB-mEGFP sejtek | 300173

Általános információk

Description

A HK-ZFN-AURKB-mEGFP sejtvonal egy genetikailag módosított humán sejtmodell, amelyet az AURKB (Aurora Kinase B) fehérje mEGFP-vel (monomerekus Enhanced Green Fluorescent Protein) fuzionált expressziójára terveztek a cink-ujj nukleáz (ZFN) technológia segítségével. Az AURKB egy szerin/treonin kináz, amely döntő szerepet játszik a mitotikus kromoszómaszegregációban, a citokinézisben és a mitotikus orsó ellenőrzőpontjának szabályozásában. A mEGFP-vel való fúzió lehetővé teszi az AURKB aktivitásának és sejten belüli lokalizációjának valós idejű vizualizálását, ami megkönnyíti a sejtosztódás alatti dinamikus viselkedésének részletes vizsgálatát.

Ez a sejtvonal hatékony eszközként szolgál a mitózis molekuláris mechanizmusait és az AURKB specifikus funkcióit vizsgáló kutatók számára. A mEGFP beépítése lehetővé teszi a fluoreszcencia-alapú vizsgálatokat és az élő sejtek képkalkotását, betekintést nyújtva az AURKB tér-időbeli eloszlásába. A ZFN technológia alkalmazása biztosítja a pontos genomiális integrációt, fenntartva az AURKB expresszió hűségét. Ez a modell különösen értékes a rákkutatásban, ahol az AURKB gyakran túlreprezentált és a tumorigenezishez kapcsolódik, ami a terápiás beavatkozások potenciális célpontjává teszi.

Organism

Emberi

Tissue

Endocervix

Disease

Adenokarcinóma

Metastatic site

Az elsődleges daganat helye (endocervix)

Applications

Az Aurora B-kináz (AURKB) biológiája; mitotikus kinázok képkalkotása; kromoszóma-szegregáció; orsó-ellenőrzőpont; élősejt-képkalkotás; ZFN-alapú genomszerkesztés validálása; rákbiológia

Jellemzők

Age

30 év

Gender

Női

Ethnicity

Afroamerikai

Morphology

Epithelszerű, mozaikos kő alakú sejtek

Cell type

Epithel sejtek

Growth properties

Adherent

HK-ZFN-AURKB-mEGFP sejtek | 300173

Szabályozási adatok

Citation	HK-ZFN-AURKB-mEGFP (Cytion katalógusszám: 300173)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VL13
Depositor	Az Ellenberg Labor (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Ez a HeLa Kyoto vonal ZFN-integrált mEGFP fúziót tartalmaz az endogén AURKB lokuszon a mitotikus kinázok képzéséhez. Ez az osztályozás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.

Biomolekuláris adatok

Products	EGFP (Fokozott zöld fluoreszcens fehérje)
-----------------	---

A kezelése

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percre hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percre. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal

HK-ZFN-AURKB-mEGFP sejtek | 300173**Freeze medium**

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtanyagot 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt-kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HK-ZFN-AURKB-mEGFP sejtek | 300173

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 °C és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.