

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

Általános információk

Description

A HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry sejtvonala, amely a HeLa Kyoto sejtekből származik, egy speciális modell, amelyet a sejtbiológiai kutatásokban használnak. Genetikailag úgy alakították ki, hogy a monomerizált, megerősített zöld fluoreszcens fehérjével (mEGFP) jelölt Aurora B-kinázt (AURKB) és az mCherry-vel jelölt belső centromer fehérjét (INCENP) expresszálja. Ezek a módosítások lehetővé teszik a kutatók számára, hogy nyomon kövessék e fehérjék dinamikáját és kölcsönhatásait a sejtosztódás során. Az Aurora B-kináz elengedhetetlen a kromoszómaszegregációhoz és a citokinézishez, míg az INCENP a kromoszómális utaskomplex (CPC) kritikus összetevője, amely a mitotikus progressziót koordinálja.

Ez a kettős fluoreszcens jelölés hatékony eszközt biztosít az élő sejtek képalkotásához, lehetővé téve a fehérjék eloszlásának részletes tanulmányozását a sejtciklus során. A HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry sejtvonala értékes a mitotikus szabályozás, a kromoszóma-stabilitás és a mitotikus ellenőrzőpont kutatásához. A genetikai módosításokhoz használt cink-ujj nukleázok (ZFN) pontossága biztosítja e modell pontosságát, így ideális a rákbiológia és a terápiás fejlesztés nagy pontosságú vizsgálataihoz.

Organism Emberi

Tissue Endocervix

Disease Adenokarcinóma

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

Jellemzők

Age 30 év

Gender Női

Ethnicity Afroamerikai

Morphology Epithelszerű, mozaikos kő alakú sejtek

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry (Cytion katalógusszám 300270)

Biosafety level 1

HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry sejtek | 300270**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_VL14**Depositor** Az Ellenberg Labor (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ez a HeLa Kyoto két színű vonal ZFN-technológiával előállított AURKB-mEGFP és INCENP-mCherry konstrukciókat tartalmaz kromoszóma-passzázs komplexek tanulmányozásához. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, más országokban eltérő lehet.**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 NaHCO₃, 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 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. 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**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 krioindukált stressz csökkentése érdekében.

HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry sejtek | 300270**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 °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 °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 kriofülkét 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 sejt pelletet 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 sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat 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.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat 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.

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

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 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.