

Sel HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

Informasi umum

Description

Garis sel HK-ZFN-AURKB-mEGFP adalah model sel manusia yang direkayasa secara genetik yang dirancang untuk mengekspresikan protein AURKB (Aurora Kinase B) yang digabungkan dengan mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) menggunakan teknologi Zinc Finger Nuclease (ZFN). AURKB adalah serine/threonine kinase yang memainkan peran penting dalam pemisahan kromosom mitosis, sitokinesis, dan regulasi pos pemeriksaan spindle mitosis. Penggabungan dengan mEGFP memungkinkan visualisasi aktivitas dan lokalisasi AURKB secara real-time di dalam sel, memfasilitasi studi terperinci tentang perilaku dinamisnya selama pembelahan sel.

Garis sel ini berfungsi sebagai alat yang ampuh bagi para peneliti yang menyelidiki mekanisme molekuler mitosis dan fungsi spesifik AURKB. Penggabungan mEGFP memungkinkan pengujian berbasis fluoresensi dan pencitraan sel hidup, memberikan wawasan tentang distribusi spatiotemporal AURKB. Penggunaan teknologi ZFN memastikan integrasi genom yang tepat, menjaga keakuratan ekspresi AURKB. Model ini sangat berharga dalam penelitian kanker, di mana AURKB sering diekspresikan secara berlebihan dan terkait dengan tumorigenesis, menjadikannya target potensial untuk intervensi terapeutik.

Organism

Manusia

Tissue

Endoserviks

Disease

Adenokarsinoma

Metastatic site

Lokasi tumor primer (endoserviks)

Applications

Biologi Aurora B kinase (AURKB); pencitraan kinase mitosis; segregasi kromosom; titik pemeriksaan spindle; pencitraan sel hidup; validasi pengeditan genom dengan ZFN; biologi kanker

Karakteristik

Age

30 tahun

Gender

Perempuan

Ethnicity

Afrika-Amerika

Morphology

Sel mirip epitel dengan bentuk batu mosaik

Cell type

Sel epitel

Growth properties

Patuh

Sel HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

Data Peraturan

Citation	HK-ZFN-AURKB-mEGFP (Nomor katalog Cytion 300173)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VL13
Depositor	Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Jalur HeLa Kyoto ini mengandung fusi mEGFP terintegrasi ZFN pada lokus AURKB endogen untuk pencitraan kinase mitosis. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.

Data Biomolekuler

Products	EGFP (Enhanced Green Fluorescent Protein)
-----------------	---

Penanganan

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)
Supplements	Tambahkan media dengan 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.
Fluid renewal	2 hingga 3 kali per minggu

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

Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $300 \times g$ selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

Flask Coating

Tidak ada

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

**Shipping
Conditions**

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

**Storage
Conditions**

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196°C . Penyimpanan pada suhu -80°C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.