

HK-ZFN-AURKB-mEGFP-celler | 300173

Generell informasjon

Description

HK-ZFN-AURKB-mEGFP-cellelinjen er en genmodifisert human cellemodell som er utviklet for å uttrykke AURKB-proteinet (Aurora Kinase B) fusjonert med mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) ved hjelp av Zinc Finger Nuclease (ZFN)-teknologi. AURKB er en serin/treoninkinase som spiller en avgjørende rolle i mitotisk kromosomsegregering, cytokinese og regulering av det mitotiske spindelkontrollpunktet. Fusjonen med mEGFP gjør det mulig å visualisere AURKBs aktivitet og lokalisering i cellen i sanntid, noe som muliggjør detaljerte studier av dens dynamiske oppførsel under celledeling.

Denne cellelinjen er et nyttig verktøy for forskere som ønsker å undersøke de molekylære mekanismene bak mitose og de spesifikke funksjonene til AURKB. Inkorporeringen av mEGFP muliggjør fluorescensbaserte analyser og avbildning av levende celler, noe som gir innsikt i den spatiotemporale fordelingen av AURKB. Bruken av ZFN-teknologi sikrer presis genomisk integrasjon, slik at AURKB-uttrykket forblir trofast. Denne modellen er spesielt verdifull i kreftforskning, der AURKB ofte er overuttrykt og knyttet til tumorigenese, noe som gjør den til et potensielt mål for terapeutiske intervensjoner.

Organism

Menneskelig

Tissue

Endocervix

Disease

Adenokarsinom

Kjennetegn

Age

30 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Afroamerikaner

Morphology

Epitel-lignende celler med mosaikksteinform

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

HK-ZFN-AURKB-mEGFP (Cytion katalognummer 300173)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

HK-ZFN-AURKB-mEGFP-celler | 300173**CellosaurusAccession** CVCL_VL13**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linjen inneholder en ZFN-integrert mEGFP-fusjon ved det endogene AURKB-lokuset for mitotisk kinaseavbildning. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Products** EGFP (Enhanced Green Fluorescent Protein)**Håndtering****Culture Medium** DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** Et forhold på 1:3 anbefales**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optiming, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

HK-ZFN-AURKB-mEGFP-celler | 300173

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

HK-ZFN-AURKB-mEGFP-celler | 300173

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

PEZ6: CLS-145