

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

Generell informasjon

Description

HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry-cellelinjen, som er avledet fra HeLa Kyoto-celler, er en spesialisert modell som brukes i cellebiologisk forskning. Den er genetisk modifisert til å uttrykke Aurora B-kinase (AURKB) merket med monomert forsterket grønt fluorescerende protein (mEGFP) og Inner Centromere Protein (INCENP) merket med mCherry. Disse modifikasjonene gjør det mulig for forskere å spore dynamikken og interaksjonene mellom disse proteinene under celledeling. Aurora B-kinase er avgjørende for kromosomsegregering og cytokinese, mens INCENP er en kritisk komponent i Chromosomal Passenger Complex (CPC), som koordinerer mitotisk progresjon.

Denne doble fluorescerende merkingen gir et kraftig verktøy for avbildning av levende celler, noe som gjør det mulig å studere proteindistribusjonen i løpet av celledelingen i detalj. HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry-cellelinjen er verdifull for forskning på mitotisk regulering, kromosomal stabilitet og det mitotiske sjekkpunktet. Presisjonen til sinkfingernuklease (ZFN) som brukes til genetiske modifikasjoner, sikrer nøyaktigheten til denne modellen, noe som gjør den ideell for studier av kreftbiologi og terapeutisk utvikling.

Organism

Menneskelig

Tissue

Endocervix

Disease

Adenokarsinom

Synonyms

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

Kjennetegn

Age

30 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Afroamerikaner

Morphology

Epitel-lignende celler med mosaikksteinform

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

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

Biosafety level

1

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

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_VL14**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linjen med to farger inneholder ZFN-konstruerte AURKB-mEGFP- og INCENP-mCherry-konstruksjoner for studier av kromosompassasjerkomplekser. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan være annerledes 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 optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry-celler | 300270**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

Ingen

**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/ZFN-INCENP-mCherry-celler | 300270

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: L428