

Komórki HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa HK-ZFN-AURKB-mEGFP to genetycznie zmodyfikowany ludzki model komórkowy zaprojektowany do ekspresji białka AURKB (Aurora Kinase B) połączonego z mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) przy użyciu technologii Zinc Finger Nuclease (ZFN). AURKB to kinaza serynowo-treoninowa, która odgrywa kluczową rolę w segregacji chromosomów mitotycznych, cytokinezie i regulacji punktu kontrolnego wrzeciona mitotycznego. Fuzja z mEGFP pozwala na wizualizację w czasie rzeczywistym aktywności i lokalizacji AURKB w komórce, ułatwiając szczegółowe badania jej dynamicznego zachowania podczas podziału komórki.

Ta linia komórkowa służy jako potężne narzędzie dla naukowców badających molekularne mechanizmy mitozy i specyficzne funkcje AURKB. Włączenie mEGFP umożliwia testy oparte na fluorescencji i obrazowanie żywych komórek, zapewniając wgląd w przestrzenno-czasową dystrybucję AURKB. Zastosowanie technologii ZFN zapewnia precyzyjną integrację genomową, utrzymując wierność ekspresji AURKB. Model ten jest szczególnie cenny w badaniach nad rakiem, gdzie AURKB często ulega nadekspresji i jest powiązany z nowotworzeniem, co czyni go potencjalnym celem interwencji terapeutycznych.

Organism

Człowiek

Tissue

Szyjka macicy

Disease

Gruczolakorak

Metastatic site

Miejsce występowania guza pierwotnego (wewnętrzna część szyjki macicy)

Applications

Biologia kinazy Aurora B (AURKB); obrazowanie kinaz mitotycznych; segregacja chromosomów; punkt kontrolny wrzeciona; obrazowanie żywych komórek; weryfikacja edycji genomu metodą ZFN; biologia nowotworów

Charakterystyka**Age**

30 lat

Gender

Kobieta

Ethnicity

Afroamerykanin

Morphology

Komórki podobne do nabłonka o mozaikowym kształcie kamienia

Cell type

Komórki nabłonkowe

Growth properties

Adherent

Komórki HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173**Dane regulacyjne**

Citation	HK-ZFN-AURKB-mEGFP (numer katalogowy Cytion 300173)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VL13
Depositor	Laboratorium Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Ta linia HeLa Kyoto zawiera fuzję mEGFP zintegrowaną z ZFN w endogennym locus AURKB do obrazowania kinazy mitotycznej. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne

Products	EGFP (wzmocnione zielone białko fluorescencyjne)
-----------------	--

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecany jest stosunek 1:3
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu

Komórki HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

PEZ6: CLS-145