

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

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry, pochodząca z komórek HeLa Kyoto, jest wyspecjalizowanym modelem wykorzystywanym w badaniach biologii komórkowej. Została ona genetycznie zmodyfikowana w celu ekspresji kinazy Aurora B (AURKB) znakowanej monomerycznym wzmocnionym zielonym białkiem fluorescencyjnym (mEGFP) i wewnętrznym białkiem centromerowym (INCENP) znakowanym mCherry. Modyfikacje te umożliwiają badaczom śledzenie dynamiki i interakcji tych białek podczas podziału komórki. Kinaza Aurora B jest niezbędna do segregacji chromosomów i cytokinezy, podczas gdy INCENP jest krytycznym składnikiem Chromosomal Passenger Complex (CPC), koordynującym postęp mitotyczny.

To podwójne znakowanie fluorescencyjne zapewnia potężne narzędzie do obrazowania żywych komórek, umożliwiając szczegółowe badanie dystrybucji białek podczas cyklu komórkowego. Linia komórkowa HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry jest cenna dla badań nad regulacją mitotyczną, stabilnością chromosomów i mitotycznym punktem kontrolnym. Precyzja nukleaz z palcem cynkowym (ZFN) stosowanych do modyfikacji genetycznych zapewnia dokładność tego modelu, czyniąc go idealnym do badań o wysokiej wierności w biologii nowotworów i rozwoju terapeutycznym.

Organism

Człowiek

Tissue

Szyjka macicy

Disease

Gruczolakorak

Synonyms

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

Charakterystyka

Age

30 lat

Gender

Kobieta

Ethnicity

Afroamerykanin

Morphology

Komórki podobne do nabłonka o mozaikowym kształcie kamienia

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Citation

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

Komórki HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry | 300270**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_VL14**Depositor** Laboratorium Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ta dwukolorowa linia HeLa Kyoto zawiera konstrukcje AURKB-mEGFP i INCENP-mCherry zmodyfikowane za pomocą ZFN do badań nad kompleksem pasażerskim chromosomów. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie 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 NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzuppełnić 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**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.

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

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 zawieszonych, 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

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

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 fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

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

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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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 wykluczane 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: L428