

Células HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173**Informações gerais****Description**

A linha celular HK-ZFN-AURKB-mEGFP é um modelo celular humano geneticamente modificado, concebido para exprimir a proteína AURKB (Aurora Kinase B) em fusão com a mEGFP (proteína fluorescente verde melhorada monomérica), utilizando a tecnologia Zinc Finger Nuclease (ZFN). A AURKB é uma serina/treonina quinase que desempenha um papel crucial na segregação cromossômica mitótica, na citocinese e na regulação do ponto de controlo do fuso mitótico. A fusão com mEGFP permite a visualização em tempo real da atividade e localização da AURKB na célula, facilitando estudos detalhados do seu comportamento dinâmico durante a divisão celular.

Esta linha celular serve como uma ferramenta poderosa para os investigadores que investigam os mecanismos moleculares da mitose e as funções específicas da AURKB. A incorporação de mEGFP permite ensaios baseados em fluorescência e imagens de células vivas, fornecendo informações sobre a distribuição espaço-temporal de AURKB. A utilização da tecnologia ZFN assegura uma integração genómica precisa, mantendo a fidelidade da expressão da AURKB. Este modelo é particularmente valioso na investigação do cancro, em que a AURKB está frequentemente sobreexpressa e associada à tumorigénese, o que a torna um alvo potencial para intervenções terapêuticas.

Organism

Humano

Tissue

Endocérvix

Disease

Adenocarcinoma

Caraterísticas**Age**

30 anos

Gender

Feminino

Ethnicity

Afro-americano

Morphology

Células de tipo epitelial com forma de pedra em mosaico

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares**Citation**

HK-ZFN-AURKB-mEGFP (número de catálogo Cytion 300173)

Biosafety level

1

Células HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VL13
Depositor	O Laboratório Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Esta linha HeLa Kyoto contém uma fusão mEGFP integrada por ZFN no locus endógeno AURKB para imagiologia da cinase mitótica. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares

Products	EGFP (Proteína fluorescente verde melhorada)
-----------------	--

Manuseamento

Culture Medium	DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Completar o meio com 10% de FBS
--------------------	---------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
---------------------	--

Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
----------------------	------------------------

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.
----------------------	---

Células HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.