

Celule HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

Informații generale

Description

Linia celulară HK-ZFN-AURKB-mEGFP este un model celular uman modificat genetic, conceput pentru a exprima proteina AURKB (Aurora Kinase B) fuzionată cu mEGFP (proteină fluorescentă verde îmbunătățită monomerică) prin tehnologia Zinc Finger Nuclease (ZFN). AURKB este o serină/treonină kinază care joacă un rol crucial în segregarea cromozomilor mitotici, citocineză și reglarea punctului de control al fusului mitotic. Fuziunea cu mEGFP permite vizualizarea în timp real a activității și localizării AURKB în interiorul celulei, facilitând studiile detaliate ale comportamentului său dinamic în timpul diviziunii celulare.

Această linie celulară servește drept un instrument puternic pentru cercetătorii care investighează mecanismele moleculare ale mitozei și funcțiile specifice ale AURKB. Încorporarea mEGFP permite teste bazate pe fluorescență și imagistica celulelor vii, oferind informații despre distribuția spațio-temporală a AURKB. Utilizarea tehnologiei ZFN asigură integrarea genomică precisă, menținând fidelitatea expresiei AURKB. Acest model este deosebit de valoros în cercetarea cancerului, unde AURKB este adesea supraexprimat și legat de tumorigeneză, ceea ce îl face o țintă potențială pentru intervențiile terapeutice.

Organism

Om

Tissue

Endocervix

Disease

Adenocarcinom

Metastatic site

Localizarea tumorii primare (endocervix)

Applications

Biologia kinazei Aurora B (AURKB); imagistica kinazelor mitotice; segregarea cromozomilor; punctul de control al fusului mitotic; imagistica celulelor vii; validarea editării genomului cu ZFN; biologia cancerului

Caracteristici

Age

30 de ani

Gender

Femei

Ethnicity

African american

Morphology

Celule de tip epitelial cu formă de piatră mozaicată

Cell type

Celule epiteliale

Growth properties

Aderent

Celule HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

Date de reglementare

Citation	HK-ZFN-AURKB-mEGFP (număr de catalog Cytion 300173)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VL13
Depositor	Laboratorul Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Această linie HeLa Kyoto conține o fuziune mEGFP integrată prin ZFN la nivelul locusului endogen AURKB pentru imagistica kinazei mitotice. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte părți.

Date biomoleculare

Products	EGFP (proteină fluorescentă verde îmbunătățită)
-----------------	---

Manipulare

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
Fluid renewal	de 2 până la 3 ori pe săptămână
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.