

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

Informații generale

Description

Linia celulară HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry, derivată din celulele HeLa Kyoto, este un model specializat utilizat în cercetarea biologiei celulare. Aceasta a fost modificată genetic pentru a exprima Aurora B kinaza (AURKB) marcată cu proteină fluorescentă verde monomerică îmbunătățită (mEGFP) și cu proteină centromeră interioară (INCENP) marcată cu mCherry. Aceste modificări permit cercetătorilor să urmărească dinamica și interacțiunile acestor proteine în timpul diviziunii celulare. Aurora B kinaza este esențială pentru segregarea cromozomilor și citocineză, în timp ce INCENP este o componentă esențială a complexului de pasageri cromozomiali (CPC), coordonând progresia mitotică.

Această dublă marcarea fluorescentă oferă un instrument puternic pentru imagistica celulelor vii, permițând studiul detaliat al distribuției proteinelor în timpul ciclului celular. Linia celulară HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry este valoroasă pentru cercetarea reglementării mitotice, a stabilității cromozomiale și a punctului de control mitotic. Precizia nucleazelor cu degete de zinc (ZFN) utilizate pentru modificările genetice asigură acuratețea acestui model, făcându-l ideal pentru studii de înaltă fidelitate în biologia cancerului și dezvoltarea terapeutică.

Organism

Om

Tissue

Endocervix

Disease

Adenocarcinom

Synonyms

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

Caracteristici

Age

30 de ani

Gender

Femei

Ethnicity

African american

Morphology

Celule de tip epitelial cu formă de piatră mozaicată

Growth properties

Aderent

Date de reglementare

Citation

HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry (număr de catalog Cytion 300270)

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

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_VL14**Depositor** Laboratorul Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Această linie HeLa Kyoto cu două culori conține constructe AURKB-mEGFP și INCENP-mCherry modificate cu ZFN pentru studii privind complexul cromozomial pasager. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.**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 NaHCO₃, 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/ZFN-INCENP-mCherry | 300270

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

Pentru atașare optimă și viabilitate după decongelare, vă recomandăm să utilizați **flacoane sau plăci acoperite cu colagen**.

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.

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

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.

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.