

HK-ZFN-AURKB-mEGFP-celler | 300173

Allmän information

Description

Cellinjen HK-ZFN-AURKB-mEGFP är en genetiskt modifierad human cellmodell utformad för att uttrycka AURKB (Aurora Kinase B)-proteinet fusionerat med mEGFP (monomert förstärkt grönt fluorescerande protein) med hjälp av Zinc Finger Nuclease (ZFN)-teknik. AURKB är en serin/treoninkinas som spelar en avgörande roll i mitotisk kromosomsegregering, cytokinesi och regleringen av den mitotiska spindelns kontrollpunkt. Fusionen med mEGFP möjliggör visualisering i realtid av AURKB:s aktivitet och lokalisering i cellen, vilket underlättar detaljerade studier av dess dynamiska beteende under celledelningen.

Denna cellinje fungerar som ett kraftfullt verktyg för forskare som undersöker de molekylära mekanismerna för mitos och de specifika funktionerna hos AURKB. Införlivandet av mEGFP möjliggör fluorescensbaserade analyser och avbildning av levande celler, vilket ger insikter i den spatiotemporala fördelningen av AURKB. Användningen av ZFN-teknik säkerställer exakt genomisk integration, vilket bibehåller troheten hos AURKB-uttrycket. Denna modell är särskilt värdefull inom cancerforskning, där AURKB ofta är överuttryckt och kopplat till tumörutveckling, vilket gör det till ett potentiellt mål för terapeutiska ingrepp.

Organism

Människan

Tissue

Endocervix

Disease

Adenocarcinom

Metastatic site

Primärtumörens lokalisering (endocervix)

Applications

Biologi kring Aurora B-kinas (AURKB); avbildning av mitotiska kinaser; kromosomsegregation; spindelkontrollpunkt; avbildning av levande celler; validering av ZFN-genomredigering; cancerbiologi

Egenskaper

Age

30 år

Gender

Kvinna

Ethnicity

Afroamerikan

Morphology

Epitelliknande celler med mosaikstensform

Cell type

Epiteliala celler

Growth properties

Följsam

HK-ZFN-AURKB-mEGFP-celler | 300173

Lagstadgade uppgifter

Citation	HK-ZFN-AURKB-mEGFP (Cytion katalognummer 300173)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VL13
Depositor	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Denna HeLa Kyoto-linje innehåller en ZFN-integrerad mEGFP-fusion vid det endogena AURKB-locuset för avbildning av mitotiska kinaser. Denna klassificering gäller endast i Tyskland och kan skilja sig åt på andra ställen.

Biomolekylära data

Products	EGFP (förstärkt grönt fluorescerande protein)
-----------------	---

Hantering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.
Split ratio	Ett förhållande på 1:3 rekommenderas
Fluid renewal	2 till 3 gånger per vecka

HK-ZFN-AURKB-mEGFP-celler | 300173

Freeze medium

Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfrysad vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeskuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

HK-ZFN-AURKB-mEGFP-celler | 300173

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

STR-profil

PEZ6: CLS-145