

Bunky HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry | 300270**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry odvodená od buniek HeLa Kyoto je špecializovaný model používaný vo výskume bunkovej biológie. Bola geneticky upravená tak, aby exprimovala kinázu Aurora B (AURKB) označenú monomérom zosilneným zeleným fluorescenčným proteínom (mEGFP) a vnútorný centromérový proteín (INCENP) označený mCherry. Tieto modifikácie umožňujú výskumníkom sledovať dynamiku a interakcie týchto proteínov počas delenia buniek. Kináza Aurora B je nevyhnutná pre segregáciu chromozómov a cytokinézu, zatiaľ čo INCENP je kľúčovou zložkou chromozómového komplexu (Chromosomal Passenger Complex - CPC), ktorý koordinuje priebeh mitózy.

Toto dvojité fluorescenčné značenie poskytuje výkonný nástroj na zobrazovanie živých buniek, ktorý umožňuje podrobné štúdium distribúcie proteínov počas bunkového cyklu. Bunková línia HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry je cenná na výskum mitotickej regulácie, chromozomálnej stability a mitotického kontrolného bodu. Presnosť nukleáz so zinkovými prstami (ZFN) používaných na genetické modifikácie zabezpečuje presnosť tohto modelu, vďaka čomu je ideálny na vysoko presné štúdie v oblasti biológie rakoviny a vývoja terapií.

Organism

Ľudské

Tissue

Endocervix

Disease

Adenokarcinóm

Synonyms

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

Charakteristika**Age**

30 rokov

Gender

Ženy

Ethnicity

Afroameričan

Morphology

Epitelové bunky s mozaikovým tvarom kameňa

Growth properties

Adherent

Regulačné údaje**Citation**

HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry (katalógové číslo Cytion 300270)

Biosafety level

1

Bunky HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry | 300270**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_VL14**Depositor** Ellenbergova laboratória (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Táto dvojfarebná línia HeLa Kyoto obsahuje konštrukty AURKB-mEGFP a INCENP-mCherry vytvorené pomocou ZFN pre štúdium chromozómových komplexov. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.**Biomolekulárne údaje****Products** EGFP (zosilnený zelený fluorescenčný proteín)**Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry | 300270**Thawing and
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

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

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.