

HK-ZFN-AURKB-mEGFP Hücreleri | 300173

Genel bilgi

Description

HK-ZFN-AURKB-mEGFP hücre hattı, Çinko Parmak Nükleaz (ZFN) teknolojisi kullanılarak mEGFP (monomerik Geliştirilmiş Yeşil Floresan Protein) ile kaynaştırılmış AURKB (Aurora Kinaz B) proteinini ifade etmek için tasarlanmış genetik olarak tasarlanmış bir insan hücre modelidir. AURKB, mitotik kromozom ayrımı, sitokinez ve mitotik iğ kontrol noktasının düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan bir serin/treonin kinazdır. MEGFP ile füzyon, AURKB aktivitesinin ve hücre içindeki lokalizasyonunun gerçek zamanlı olarak görselleştirilmesine olanak tanıyarak hücre bölünmesi sırasında dinamik davranışının ayrıntılı çalışmalarını kolaylaştırır.

Bu hücre hattı, mitozun moleküler mekanizmalarını ve AURKB'nin spesifik işlevlerini araştıran araştırmacılar için güçlü bir araç görevi görmektedir. MEGFP'nin dahil edilmesi, floresan bazlı tahlillere ve canlı hücre görüntülemesine olanak tanıyarak AURKB'nin mekansal-zamansal dağılımı hakkında bilgi sağlar. ZFN teknolojisinin kullanımı, AURKB ifadesinin aslına uygunluğunu koruyarak hassas genomik entegrasyon sağlar. Bu model, AURKB'nin sıklıkla aşırı eksprese edildiği ve tümörigenezle bağlantılı olduğu kanser araştırmalarında özellikle değerlidir ve onu terapötik müdahaleler için potansiyel bir hedef haline getirir.

Organism

İnsan

Tissue

Endoserviks

Disease

Adenokarsinom

Özellikler

Age

30 yıl

Gender

Kadın

Ethnicity

Afro-Amerikan

Morphology

Mozaik taş şekilli epitel benzeri hücreler

Growth properties

Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation

HK-ZFN-AURKB-mEGFP (Cytion katalog numarası 300173)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

HK-ZFN-AURKB-mEGFP Hücreleri | 300173**CellosaurusAccession** CVCL_VL13**Depositor** Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Bu HeLa Kyoto hattı, mitotik kinaz görüntüleme için endojen AURKB lokusunda ZFN entegre edilmiş bir mEGFP füzyonu içerir. Bu sınıflandırma sadece Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.**Biyomoleküler Veriler****Products** EGFP (Geliştirilmiş Yeşil Floresan Protein)**Elleçleme****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

HK-ZFN-AURKB-mEGFP Hücreleri | 300173

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Çözüldükten sonra optimum tutunma ve canlılık için **Kolajen kaplı flasklar veya plakalar** kullanmanızı öneririz.

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

HK-ZFN-AURKB-mEGFP Hücreleri | 300173

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.