Product sheet

Клітини HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

Загальна інформація

Description	Клітинна лінія HK-ZFN-AURKB-mEGFP - це генно-інженерна модель клітин людини, призначена для експресії білка AURKB (Aurora Kinase B), злитого з mEGFP (мономерним посиленим зеленим флуоресцентним білком) за допомогою технології Zinc Finger Nuclease (ZFN). AURKB - це серин/треонінова кіназа, яка відіграє важливу роль у мітотичній сегрегації хромосом, цитокінезі та регуляції контрольної точки мітотичного веретена. Злиття з mEGFP дозволяє візуалізувати активність та локалізацію AURKB в клітині в режимі реального часу, що сприяє детальному вивченню його динамічної поведінки під час клітинного поділу. Ця клітинна лінія слугує потужним інструментом для дослідників, які вивчають молекулярні механізми мітозу та специфічні функції AURKB. Включення mEGFP дозволяє проводити флуоресцентні аналізи та візуалізацію живих клітин, забезпечуючи розуміння просторово-часового розподілу AURKB. Використання технології ZFN забезпечує точну геномну інтеграцію, зберігаючи достовірність експресії AURKB. Ця модель особливо цінна в дослідженнях раку, де AURKB часто гіперекспресується і пов'язаний з пухлиноутворенням, що робить його потенційною мішенню для терапевтичних втручань.
Organism	Людина
Tissue	Ендоцервікс
Disease	Аденокарцинома

Характеристики

Age	30 років
Gender	Жінка
Ethnicity	Афроамериканець
Morphology	Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	HK-ZFN-AURKB-mEGFP (номер за каталогом Cytion 300173)
Biosafety level	1

Клітини HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VL13
Depositor	Лабораторія Елленберга (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Ця лінія HeLa Kyoto містить ZFN-інтегрований mEGFP в ендогенному локусі AURKB для візуалізації мітотичних кіназ. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Products	EGFP (розширений зелений флуоресцентний білок)

Обробка

Culture Medium	ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO3, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.

7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.

8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини HK-ZFN-AURKB-mEGFP | 300173

Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.