

Клітини вишні НК-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP | 300270

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія НК-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry, отримана з клітин HeLa Kyoto, є спеціалізованою моделлю, що використовується в дослідженнях клітинної біології. Вона була генетично сконструйована для експресії кінази Aurora B (AURKB), міченої мономерним посиленням зеленим флуоресцентним білком (mEGFP) та білком внутрішнього центромера (INCENP), міченим mCherry. Ці модифікації дозволяють дослідникам відстежувати динаміку та взаємодію цих білків під час клітинного поділу. Кіназа Aurora B необхідна для сегрегації хромосом і цитокінезу, тоді як INCENP є критично важливим компонентом хромосомного пасажирського комплексу (CPC), що координує мітотичну прогресію.

Подвійне флуоресцентне мічення забезпечує потужний інструмент для візуалізації живих клітин, що дозволяє детально вивчати розподіл білків протягом клітинного циклу. Клітинна лінія НК-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry є цінною для дослідження мітотичної регуляції, хромосомної стабільності та мітотичної контрольної точки. Точність нуклеаз цинкових пальців (ZFN), що використовуються для генетичних модифікацій, забезпечує точність цієї моделі, що робить її ідеальною для високоточних досліджень в біології раку та терапевтичних розробках.

Organism

Людина

Tissue

Ендоцервікс

Disease

Аденокарцинома

Synonyms

НК-ZFN-AURKB-mEGFP,ZFN-INCENP-mCherry

Характеристики

Age

30 років

Gender

Жінка

Ethnicity

Афроамериканець

Morphology

Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю

Growth properties

Адепт

Нормативні дані

Citation

НК-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry (номер за каталогом Cytion 300270)

Клітини вишні НК-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP | 300270

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_VL14**Depositor** Лабораторія Елленберга (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ця двоколірна лінія HeLa Kyoto містить конструкції AURKB-mEGFP та INCENP-mCherry, створені за допомогою технології ZFN, для досліджень хромосомного пасажирського комплексу. 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 криоконсервування 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 вишні НК-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP | 300270**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 криовіал 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, зануливши 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 криовіал 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 $300 \times g$ 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. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , 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 вишні НК-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP | 300270

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих 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, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.