

Células HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry | 300270**Información general****Description**

La línea celular HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry, derivada de células HeLa Kyoto, es un modelo especializado que se utiliza en la investigación en biología celular. Ha sido modificada genéticamente para expresar la quinasa Aurora B (AURKB) marcada con proteína fluorescente verde mejorada monomérica (mEGFP) y la proteína del centrómero interno (INCENP) marcada con mCherry. Estas modificaciones permiten a los investigadores seguir la dinámica y las interacciones de estas proteínas durante la división celular. La quinasa Aurora B es esencial para la segregación cromosómica y la citocinesis, mientras que la INCENP es un componente crítico del complejo de pasajeros cromosómicos (CPC), que coordina la progresión mitótica.

Este marcaje fluorescente dual constituye una herramienta poderosa para la obtención de imágenes de células vivas, lo que permite un estudio detallado de la distribución de las proteínas durante el ciclo celular. La línea celular HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry es valiosa para investigar la regulación mitótica, la estabilidad cromosómica y el punto de control mitótico. La precisión de las nucleasas de dedo de zinc (ZFN) utilizadas para las modificaciones genéticas garantiza la exactitud de este modelo, lo que lo hace ideal para estudios de alta fidelidad en biología del cáncer y desarrollo terapéutico.

Organism

Humano

Tissue

Endocérvix

Disease

Adenocarcinoma

Metastatic site

Localización del tumor primario (endocérvix)

Applications

Biología del complejo de pasajeros cromosómicos (CPC); dinámica de la quinasa Aurora B y de INCENP; imágenes de la mitosis en células vivas; seguimiento fluorescente de dos colores; segregación cromosómica; citocinesis; punto de control mitótico; validación de la edición genómica con ZFN

Synonyms

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

Características**Age**

30 años

Gender

Mujer

Ethnicity

Afroamericano

Morphology

Células de tipo epitelial con forma de piedra en mosaico

Cell type

Células epiteliales

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

Growth properties Adherente

Datos normativos

Citation HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry (número de catálogo de Cytion 300270)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_VL14

Depositor El Laboratorio Ellenberg (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Esta línea bicolor de HeLa Kyoto contiene constructos AURKB-mEGFP e INCENP-mCherry modificados mediante ZFN para estudios sobre los complejos cromosómicos pasajeros. Esta clasificación se aplica únicamente en Alemania y puede variar en otros países.

Datos biomoleculares

Products EGFP (proteína fluorescente verde mejorada)

Manejo

Culture Medium DMEM, p/v: 4,5 g/L de glucosa, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO₃, p/v: 1,0 mM de piruvato de sodio (número de artículo de Cytion 820300a)

Supplements Añade al medio un 10 % de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfírelas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.

Fluid renewal De 2 a 3 veces por semana

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

Freeze medium

Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150 °C para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37 °C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrífuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiere todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO₂, atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente -78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

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

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y -196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a -80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.