

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

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry, dérivée de cellules HeLa Kyoto, est un modèle spécialisé utilisé dans la recherche en biologie cellulaire. Elle a été génétiquement modifiée pour exprimer la kinase Aurora B (AURKB) marquée par la protéine fluorescente verte améliorée monomérique (mEGFP) et la protéine du centromère interne (INCENP) marquée par la protéine mCherry. Ces modifications permettent aux chercheurs de suivre la dynamique et les interactions de ces protéines au cours de la division cellulaire. La kinase Aurora B est essentielle à la ségrégation chromosomique et à la cytokinèse, tandis que l'INCENP est un composant essentiel du complexe passager chromosomique (CPC), qui coordonne la progression mitotique.

Ce double marquage fluorescent constitue un outil puissant pour l'imagerie de cellules vivantes, permettant une étude détaillée de la distribution des protéines au cours du cycle cellulaire. La lignée cellulaire HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry est précieuse pour la recherche sur la régulation mitotique, la stabilité chromosomique et le point de contrôle mitotique. La précision des nucléases à doigt de zinc (ZFN) utilisées pour les modifications génétiques garantit l'exactitude de ce modèle, ce qui le rend idéal pour des études de haute fidélité en biologie du cancer et en développement thérapeutique.

Organism

Humain

Tissue

Endocervix

Disease

Adénocarcinome

Metastatic site

Site de la tumeur primaire (endocervix)

Applications

Biologie du complexe chromosomique passager (CPC); dynamique de la kinase Aurora B et de l'INCENP; imagerie de la mitose en cellules vivantes; suivi par fluorescence bicolore; ségrégation chromosomique; cytokinèse; point de contrôle mitotique; validation de l'édition génomique par ZFN

Synonyms

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

Caractéristiques

Age

30 ans

Gender

Femme

Ethnicity

Afro-Américain

Morphology

Cellules de type épithélial présentant une forme de pierre en mosaïque

Cell type

Cellules épithéliales

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

Growth properties Adepte

Données réglementaires

Citation HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry (numéro de catalogue Cytion 300270)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_VL14

Depositor Le laboratoire Ellenberg (EMBL)

GMO Status GMO-S1 : Cette lignée HeLa Kyoto bicolore contient des constructions AURKB-mEGFP et INCENP-mCherry modifiées par ZFN, destinées à l'étude des complexes chromosomiques passagers. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut varier ailleurs.

Données biomoléculaires

Products EGFP (protéine fluorescente verte améliorée)

Manipulation

Culture Medium DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de NaHCO₃, p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)

Supplements Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Fluid renewal 2 à 3 fois par semaine

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

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO₂, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

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

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.