

Células HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry | 300270**Informações gerais****Description**

A linhagem celular HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry, derivada de células HeLa Kyoto, é um modelo especializado utilizado em pesquisas de biologia celular. Ela foi geneticamente modificada para expressar a quinase Aurora B (AURKB) marcada com a proteína fluorescente verde aprimorada monomérica (mEGFP) e a proteína do centrômero interno (INCENP) marcada com mCherry. Essas modificações permitem que os pesquisadores acompanhem a dinâmica e as interações dessas proteínas durante a divisão celular. A quinase Aurora B é essencial para a segregação cromossômica e a citocinese, enquanto a INCENP é um componente crítico do Complexo de Passageiros Cromossômicos (CPC), coordenando a progressão mitótica.

Essa marcação fluorescente dupla oferece uma ferramenta poderosa para imagens de células vivas, permitindo o estudo detalhado da distribuição das proteínas durante o ciclo celular. A linhagem celular HK-ZFN-AURKB-mEGFP/ZFN-INCENP-mCherry é valiosa para pesquisas sobre regulação mitótica, estabilidade cromossômica e o ponto de verificação mitótico. A precisão das nucleases de dedo de zinco (ZFNs) utilizadas para modificações genéticas garante a exatidão desse modelo, tornando-o ideal para estudos de alta fidelidade na biologia do câncer e no desenvolvimento terapêutico.

Organism

Humano

Tissue

Endocérvix

Disease

Adenocarcinoma

Metastatic site

Localização do tumor primário (endocérvix)

Applications

Biologia do Complexo de Passageiros Cromossômicos (CPC); dinâmica da quinase Aurora B e da proteína INCENP; imagens de mitose em células vivas; rastreamento por fluorescência de duas cores; segregação cromossômica; citocinese; ponto de verificação mitótico; validação da edição do genoma por ZFN

Synonyms

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

Características**Age**

30 anos

Gender

Mulher

Ethnicity

afro-americano

Morphology

Células de tipo epitelial com formato de pedra em mosaico

Cell type

Células epiteliais

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

Growth properties Aderente

Dados regulatórios

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

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_VL14

Depositor Laboratório Ellenberg (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Esta linhagem HeLa Kyoto de duas cores contém construções AURKB-mEGFP e INCENP-mCherry modificadas por ZFN para estudos de complexos de passageiros cromossômicos. Essa classificação se aplica apenas na Alemanha e pode variar em outros países.

Dados biomoleculares

Products EGFP (Proteína Fluorescente Verde Aprimorada)

Manuseio

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

Supplements Adicione 10% de FBS ao meio

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

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

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

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

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.