

Клетки НК EGFP-Kleisin-beta | 300674

Обща информация

Description

Клетъчната линия НК EGFP-Kleisin-beta представлява генетично модифицирана разновидност на клетките HeLa Kyoto, предназначена основно за изследване на хромозомната кохезия по време на клетъчния цикъл. Тази клетъчна линия експресира подобрен зелен флуоресцентен протеин (EGFP), слят с протеина Kleisin-beta, ключов компонент на кохезиновия комплекс, който е жизненоважен за кохезията на сестринските хроматиди. Експресията на маркирания с EGFP Kleisin-beta позволява визуализиране в реално време на динамиката и локализацията на кохезина през целия клетъчен цикъл, което улеснява подробните анализи на хромозомната структура и функция в клетъчен контекст.

Този клетъчен модел обикновено се използва в изследвания, фокусирани върху механизмите на митотичната и мейотичната хромозомна сегрегация, като по-специално се разглежда как регулирането на кохезина влияе върху генетичната стабилност и клетъчното делене. Флуоресцентното маркиране на Kleisin-beta позволява да се изследва взаимодействието му с други кохезинови компоненти и хромозомни протеини, което дава представа за пространственото и времевото сглобяване на кохезина върху хромозомите. Използването на тази клетъчна линия се разпростира върху изследванията на генетични нарушения и рак, при които функцията на кохезина е нарушена, като предлага ценен инструмент за разбиране на патогенезата и разработване на терапевтични стратегии.

Organism Човек

Tissue Цервикс

Disease Карцином

Synonyms HeLa Kyoto EGFP Kleisin-b, HeLa Kyoto Kleisin-beta EGFP

Характеристики

Age 30 години

Gender Жена

Ethnicity Афроамериканец

Morphology Епителиални клетки с форма на мозаечно камъче

Growth properties Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Клетки НК EGFP-Kleisin-beta | 300674

Citation	НК EGFP-Kleisin-beta (каталожен номер 300674 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D64
Depositor	Лабораторията на Елзбърг (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Тази линия HeLa Kyoto съдържа конструкция EGFP-kleisin-beta за изследвания на живи клетки на кохезина и хромозомната архитектура. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Protein expression	EGFP-Kleisin-β: Местоположение/ген: 1..589 / Pcmv, 619..645 / Flag-tag, 661..1368 / GFP, 1393..3206 / Kleisin Beta, 4474..5268 KanR/NeoR
---------------------------	--

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	1×10^4 клетки/cm ²
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично

Клетки НК EGFP-Kleisin-beta | 300674**Post-Thaw Recovery**

След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/ cm^2 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^\circ\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^\circ\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^\circ\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Клетки НК EGFP-Kleisin-beta | 300674

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.