

HK EGFP-Kleisin-beta-celler | 300674

Generel information

Description

HK EGFP-Kleisin-beta-cellelinjen repræsenterer en genetisk modificeret variant af HeLa Kyoto-celler, der primært er designet til undersøgelse af kromosomkohæsion under cellecyklussen. Denne cellelinje udtrykker et forstærket grønt fluorescerende protein (EGFP), der er fusioneret med Kleisin-beta-proteinet, en afgørende komponent i cohesin-komplekset, der er afgørende for søsterkromatid-kohæsion. Udtrykket af EGFP-mærket Kleisin-beta giver mulighed for realtidsvisualisering af kohesindynamik og lokalisering gennem hele cellecyklussen, hvilket letter detaljerede analyser af kromosomstruktur og -funktion i en cellulær kontekst.

Denne cellemodel bruges typisk i forskning med fokus på mekanismerne for mitotisk og meiotisk kromosomadskillelse, hvor man især ser på, hvordan cohesins regulering påvirker den genetiske stabilitet og celledelingen. Den fluorescerende mærkning af Kleisin-beta gør det muligt at undersøge dens interaktion med andre cohesin-komponenter og kromosomproteiner, hvilket giver indsigt i den rumlige og tidsmæssige samling af cohesin på kromosomer. Brugen af denne cellelinje strækker sig til undersøgelser af genetiske lidelser og kræftformer, hvor cohesin-funktionen er forstyrret, hvilket giver et værdifuldt værktøj til at forstå patogenesen og udvikle terapeutiske strategier.

Organism

Menneske

Tissue

Livmoderhalsen

Disease

Karcinom

Synonyms

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

Karakteristika

Age

30 år

Gender

Kvinde

Ethnicity

Afroamerikaner

Morphology

Epitel-lignende celler med mosaikstenform

Growth properties

Monolag, klæbende

Regulatoriske data

Citation

HK EGFP-Kleisin-beta (Cytion katalognummer 300674)

HK EGFP-Kleisin-beta-celler | 300674**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D64**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linje indeholder en EGFP-kleisin-beta-konstruktion til levende celleundersøgelser af kohesin og kromosomarkitektur. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.**Biomolekylære data****Protein expression** EGFP-Kleisin- β : Placering/gen: 1..589 / Pcmv, 619..645 / Flag-tag, 661..1368 / GFP, 1393..3206 / Kleisin Beta, 4474..5268 KanR/NeoR**Håndtering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Seeding density** 1×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Post-Thaw Recovery** Efter optøning skal cellerne udplades med 5×10^4 celler/cm², og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.

HK EGFP-Kleisin-beta-celler | 300674**Freeze medium**

Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

HK EGFP-Kleisin-beta-celler | 300674

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.