

Κύτταρα HK EGFP-Kleisin-beta | 300674**Γενικές πληροφορίες****Description**

Η κυτταρική σειρά HK EGFP-Kleisin-beta αντιπροσωπεύει μια γενετικά τροποποιημένη παραλλαγή των κυττάρων HeLa Kyoto που έχει σχεδιαστεί κυρίως για τη μελέτη της συνοχής των χρωμοσωμάτων κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου. Αυτή η κυτταρική σειρά εκφράζει μια ενισχυμένη πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (EGFP) συγχωνευμένη με την πρωτεΐνη Kleisin-beta, ένα κρίσιμο συστατικό του συμπλόκου της κοχεσίνης που είναι ζωτικής σημασίας για τη συνοχή των αδελφών χρωματοειδών. Η έκφραση της Kleisin-beta με ετικέτα EGFP επιτρέπει την οπτικοποίηση σε πραγματικό χρόνο της δυναμικής και του εντοπισμού της κοχεσίνης καθ' όλη τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου, διευκολύνοντας λεπτομερείς αναλύσεις της δομής και της λειτουργίας των χρωμοσωμάτων σε κυτταρικό πλαίσιο.

Αυτό το κυτταρικό μοντέλο χρησιμοποιείται συνήθως σε έρευνες που επικεντρώνονται στους μηχανισμούς του μιτωτικού και του μειωτικού διαχωρισμού των χρωμοσωμάτων, εξετάζοντας ιδιαίτερα τον τρόπο με τον οποίο η ρύθμιση της κοχεσίνης επηρεάζει τη γενετική σταθερότητα και την κυτταρική διαίρεση. Η φθορίζουσα σήμανση της Kleisin-beta επιτρέπει τη διερεύνηση της αλληλεπίδρασής της με άλλα συστατικά της κοχεσίνης και χρωμοσωμικές πρωτεΐνες, παρέχοντας πληροφορίες για τη χωρική και χρονική συναρμολόγηση της κοχεσίνης στα χρωμοσώματα. Η χρήση αυτής της κυτταρικής σειράς επεκτείνεται σε μελέτες γενετικών διαταραχών και καρκίνων όπου η λειτουργία της κοχεσίνης διαταράσσεται, προσφέροντας ένα πολύτιμο εργαλείο για την κατανόηση της παθογένειας και την ανάπτυξη θεραπευτικών στρατηγικών.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Τράχηλος μήτρας

Disease

Καρκίνωμα

Synonyms

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

Χαρακτηριστικά**Age**

30 χρόνια

Gender

Γυναίκα

Ethnicity

Αφροαμερικανός

Morphology

Επιθηλιακά κύτταρα με ψηφιδωτό σχήμα πέτρας

Growth properties

Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Ρυθμιστικά δεδομένα

Κύτταρα HK EGFP-Kleisin-beta | 300674

Citation	HK EGFP-Kleisin-beta (αριθμός καταλόγου Cytion 300674)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D64
Depositor	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η σειρά HeLa Kyoto περιέχει ένα κατασκεύασμα EGFP-kleisin-beta για μελέτες ζωντανών κυττάρων της κοεσίνης και της αρχιτεκτονικής των χρωμοσωμάτων. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

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

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Seeding density	1 x 10 ⁴ κύτταρα/cm ²
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Κύτταρα HK EGFP-Kleisin-beta | 300674**Post-Thaw Recovery**

Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5×10^4 κύτταρα/cm² και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.

Freeze medium

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Κύτταρα HK EGFP-Kleisin-beta | 300674

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.