Product sheet

Células HK EGFP-Kleisin-beta | 300674

Información general

Description	La línea celular HK EGFP-Kleisin-beta representa una variante genéticamente modificada de las células Hela Kyoto diseñada principalmente para el estudio de la cohesión cromosómica durante el ciclo celular. Esta línea celular expresa una proteína verde fluorescente mejorada (EGFP) fusionada con la proteína Kleisin-beta, un componente crucial del complejo cohesina que es vital para la cohesión de cromátidas hermanas. La expresión de Kleisin-beta marcada con EGFP permite visualizar en tiempo real la dinámica y localización de la cohesina a lo largo del ciclo celular, lo que facilita el análisis detallado de la estructura y función cromosómica en un contexto celular. Este modelo celular suele utilizarse en investigaciones centradas en los mecanismos de segregación cromosómica mitótica y meiótica, en particular para estudiar cómo influye la regulación de la cohesina en la estabilidad genética y la división celular. El marcaje fluorescente de Kleisin-beta permite investigar su interacción con otros componentes de la cohesina y con proteínas cromosómicas, proporcionando información sobre el ensamblaje espacial y temporal de la cohesina en los cromosomas. El uso de esta línea celular se extiende a estudios de trastornos genéticos y cánceres en los que la función de la cohesina está alterada, ofreciendo una valiosa herramienta para comprender la patogénesis y desarrollar estrategias terapéuticas.
Organism	Humano
Tissue	Cérvix
Disease	Carcinoma
Synonyms	HeLa Kyoto EGFP Kleisin-b, HeLa Kyoto Kleisin-beta EGFP

Características

Age	30 años
Gender	Mujer
Ethnicity	Afroamericanos
Morphology	Células de aspecto epitelial con forma de piedra en mosaico
Growth properties	Monocapa, adherente

Datos reglamentarios

Citation	HK EGFP-Kleisin-beta (número de catálogo de Cytion 300674)

Product sheet

Células HK EGFP-Kleisin-beta | 300674

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D64
Depositor	Laboratorio Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Esta línea HeLa Kyoto contiene un constructo EGFP-kleisin-beta para estudios de células vivas de la cohesina y la arquitectura cromosómica. Esta clasificación solo es válida en Alemania y puede diferir en otros países.

Datos biomoleculares

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

Manejo de

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO3, w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)
Supplements	Complementar el medio con un 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.
Split ratio	Se recomienda una proporción de 1:3
Seeding density	1×10^4 células/cm^2
Fluid renewal	de 2 a 3 veces por semana

Células HK EGFP-Kleisin-beta | 300674

Post-Thaw Recovery	Después de descongelar, siembre las células a 5 x 10^4 células/cm^2 y deje que las células se recuperen del proceso de congelación y se adhieran durante al menos 24 horas.
Freeze medium	Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrífuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmósfera humidificada.
Flask Coating	Ninguno

Células HK EGFP-Kleisin-beta | 300674

Freezing Procedure	Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.
Shipping Conditions	Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.
Storage Conditions	Para la conservación a largo plazo, colocar los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility	La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia. Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.