

HK EGFP-Kleisin-beta rakud | 300674

Üldine teave

Description

HK EGFP-Kleisin-beta rakuliin kujutab endast HeLa Kyoto rakkude geneetiliselt muundatud varianti, mis on mõeldud eelkõige kromosoomide sidususe uurimiseks rakutsükli ajal. See rakuliin ekspresseerib tõhustatud roheliselt fluorestseeruvat valku (EGFP), mis on fusioonis Kleisin-beta-valguga, mis on oluline kohesiinikompleksi komponent, mis on oluline öiekromatiidide ühtekuuluvuse jaoks. EGFP-ga märgistatud Kleisin-beta ekspressioon võimaldab kohesiini dünaamikat ja lokaliseerimist reaajas visualiseerida kogu rakutsükli jooksul, hõlbustades kromosoomi struktuuri ja funktsiooni üksikasjalikku analüüsi rakukontekstis.

Seda rakumudelit kasutatakse tavaliselt uuringutes, mis keskenduvad mitootilise ja meiotilise kromosoomide segregatsiooni mehhanismidele, eelkõige uurides, kuidas kohesiini regulatsioon mõjutab geneetilist stabiilsust ja rakkude jagunemist. Kleisiin-beta fluorestseeruv märgistamine võimaldab uurida selle koostoimet teiste kohesiini komponentide ja kromosoomivalgudega, andes ülevaate kohesiini ruumilisest ja ajalisest kokkupanekust kromosoomidel. Selle rakuliini kasutamine laieneb geneetiliste häirete ja vähktõve uuringutele, kus kohesiini funktsioon on häiritud, pakkudes väärtuslikku vahendit patogeneesi mõistmiseks ja ravistrateegiatega väljatöötamiseks.

Organism Inimene

Tissue Emakakael

Disease Kartsinoom

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

Omadused

Age 30 aastat

Gender Naised

Ethnicity Afroameeriklane

Morphology Epiteelilaadsed rakud, millel on mosaiikne kivikuju

Growth properties Monokihiline, kleepuv

Regulatiivsed andmed

Citation HK EGFP-Kleisin-beta (Cytioni katalooginumber 300674)

HK EGFP-Kleisin-beta rakud | 300674**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D64**Depositor** Ellenbergi labor (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: See HeLa Kyoto liin sisaldab EGFP-kleisin-beeta konstruktsiooni koheesiini ja kromosoomi arhitektuuri elusrakkude uuringuteks. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.**Biomolekulaarsed andmed****Protein expression** EGFP-Kleisin-β: 1..589 / Pcmv, 619..645 / Flag-tag, 661..1368 / GFP, 1393..3206 / Kleisin Beta, 4474..5268
KanR/NeoR**Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Seeding density** 1×10^4 rakku/cm²**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Post-Thaw Recovery** Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

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

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialid jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150°C , et tagada rakkude tervikluse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialid kiiresti, kastes selle 37°C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialid ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärseid katsetulemusi.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78°C . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HK EGFP-Kleisin-beta rakud | 300674

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.