

HK EGFP-Kleisin-béta sejtek | 300674

Általános információk

Description

A HK EGFP-Kleisin-béta sejt vonal a HeLa Kyoto sejtek genetikailag módosított változata, amelyet elsősorban a kromoszómák sejtciklus alatti kohéziójának tanulmányozására terveztek. Ez a sejt vonal egy fokozottan zöld fluoreszcens fehérjét (EGFP) expresszál, amelyet a Kleisin-béta fehérjével fuzionáltak, amely a kromatidák kohéziójához nélkülözhetetlen kohézin komplex egyik fontos összetevője. Az EGFP-vel jelölt Kleisin-béta expressziója lehetővé teszi a kohézin dinamikájának és lokalizációjának valós idejű vizualizálását a sejt ciklus során, megkönnyítve a kromoszóma szerkezetének és működésének részletes elemzését sejt környezetben.

Ezt a sejt modellt jellemzően a mitotikus és meiotikus kromoszómaszegregáció mechanizmusaira összpontosító kutatások során használják, különösen azt vizsgálva, hogy a kohézin szabályozása hogyan befolyásolja a genetikai stabilitást és a sejt osztódást. A Kleisin-béta fluoreszcens jelölése lehetővé teszi más kohézin komponensekkel és kromoszómális fehérjékkel való kölcsönhatásának vizsgálatát, betekintést nyújtva a kohézin kromoszómákon való térbeli és időbeli összeszerelődésébe. Ennek a sejt vonalnak a felhasználása kiterjed az olyan genetikai rendellenességekre és rákos megbetegedésekre, ahol a kohézin működése megzavarodott, értékes eszközt kínálva a patogenezis megértéséhez és terápiás stratégiák kifejlesztéséhez.

Organism

Emberi

Tissue

Cervix

Disease

Karcinóma

Synonyms

HeLa Kyoto EGFP Kleisin-b, HeLa Kyoto Kleisin-béta EGFP

Jellemzők

Age

30 év

Gender

Női

Ethnicity

Afroamerikai

Morphology

Epithelszerű, mozaikos kő alakú sejtek

Growth properties

Monoréteg, tapadó

Szabályozási adatok

Citation

HK EGFP-Kleisin-béta (Cytion katalógusszám: 300674)

HK EGFP-Kleisin-béta sejtek | 300674**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D64**Depositor** Az Ellenberg Labor (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ez a HeLa Kyoto vonal EGFP-kleisin-béta konstrukciót tartalmaz a kohezinek és a kromoszómák szerkezetének élő sejtekkel történő vizsgálatához. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, más országokban eltérő lehet.**Biomolekuláris adatok****Protein expression** EGFP-Kleisin-β: 589 / Pcmv, 619..645 / Flag-tag, 661..1368 / GFP, 1393..3206 / Kleisin-Béta, 4474..5268 KanR/NeoR**A kezelése****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Seeding density** 1×10^4 sejt/cm²**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal**Post-Thaw Recovery** Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.

HK EGFP-Kleisin-béta sejtek | 300674**Freeze medium**

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HK EGFP-Kleisin-béta sejtek | 300674

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 °C és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.