

Sel HK EGFP-Kleisin-beta | 300674

Informasi umum

Description

Garis sel HK EGFP-Kleisin-beta mewakili varian sel HeLa Kyoto yang dimodifikasi secara genetik yang dirancang terutama untuk mempelajari kohesi kromosom selama siklus sel. Garis sel ini mengekspresikan protein fluoresen hijau yang disempurnakan (EGFP) yang menyatu dengan protein Kleisin-beta, komponen penting dari kompleks kohesin yang sangat penting untuk kohesi kromosom. Ekspresi Kleisin-beta yang ditandai dengan EGFP memungkinkan visualisasi real-time dari dinamika kohesin dan lokalisasi di seluruh siklus sel, memfasilitasi analisis terperinci dari struktur dan fungsi kromosom dalam konteks seluler.

Model sel ini biasanya digunakan dalam penelitian yang berfokus pada mekanisme pemisahan kromosom mitosis dan meiosis, terutama melihat bagaimana regulasi kohesin memengaruhi stabilitas genetik dan pembelahan sel. Penandaan fluoresen Kleisin-beta memungkinkan penyelidikan interaksinya dengan komponen kohesin dan protein kromosom lainnya, memberikan wawasan tentang perakitan kohesin secara spasial dan temporal pada kromosom. Penggunaan garis sel ini meluas ke studi kelainan genetik dan kanker di mana fungsi kohesin terganggu, menawarkan alat yang berharga untuk memahami patogenesis dan mengembangkan strategi terapeutik.

Organism Manusia

Tissue Serviks

Disease Karsinoma

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

Karakteristik

Age 30 tahun

Gender Perempuan

Ethnicity Afrika-Amerika

Morphology Sel mirip epitel dengan bentuk batu mosaik

Growth properties Monolayer, patuh

Data Peraturan

Citation HK EGFP-Kleisin-beta (nomor katalog Cytion 300674)

Sel HK EGFP-Kleisin-beta | 300674**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D64**Depositor** Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Garis sel HeLa Kyoto ini mengandung konstruksi EGFP-kleisin-beta untuk studi sel hidup mengenai kohesin dan arsitektur kromosom. Klasifikasi ini berlaku hanya di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.**Data Biomolekuler****Protein expression** EGFP-Kleisin- β : Lokasi/Gen: 1..589 / Pcmv, 619..645 / Flag-tag, 661..1368 / GFP, 1393..3206 / Kleisin Beta, 4474..5268 KanR / NeoR**Penanganan****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)**Supplements** Tambahkan media dengan 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.**Seeding density** 1×10^4 sel/cm²**Fluid renewal** 2 hingga 3 kali per minggu**Post-Thaw Recovery** Setelah dicairkan, tanam sel pada kepadatan 5×10^4 sel/cm² dan biarkan sel pulih dari proses pembekuan serta menempel setidaknya selama 24 jam.

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

Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $300 \times g$ selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

Flask Coating

Tidak ada

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel HK EGFP-Kleisin-beta | 300674

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196°C . Penyimpanan pada suhu -80°C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.