

Cellule HK EGFP-Kleisin-beta | 300674

Informazioni generali

Description

La linea cellulare HK EGFP-Kleisin-beta rappresenta una variante geneticamente modificata delle cellule HeLa Kyoto, progettata principalmente per lo studio della coesione cromosomica durante il ciclo cellulare. Questa linea cellulare esprime una proteina fluorescente verde potenziata (EGFP) fusa con la proteina Kleisin-beta, un componente cruciale del complesso della coesina, fondamentale per la coesione dei cromatidi fratelli. L'espressione della Kleisin-beta marcata con EGFP consente di visualizzare in tempo reale la dinamica e la localizzazione della coesina durante il ciclo cellulare, facilitando analisi dettagliate della struttura e della funzione dei cromosomi in un contesto cellulare.

Questo modello cellulare è tipicamente utilizzato nella ricerca sui meccanismi di segregazione mitotica e meiotica dei cromosomi, in particolare per capire come la regolazione della coesina influenzi la stabilità genetica e la divisione cellulare. La marcatura fluorescente della kleisina-beta consente di studiare la sua interazione con altri componenti della coesina e con le proteine cromosomiche, fornendo indicazioni sull'assemblaggio spaziale e temporale della coesina sui cromosomi. L'uso di questa linea cellulare si estende allo studio dei disordini genetici e dei tumori in cui la funzione della coesina è disturbata, offrendo uno strumento prezioso per la comprensione della patogenesi e lo sviluppo di strategie terapeutiche.

Organism Umano

Tissue Cervice

Disease Carcinoma

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

Caratteristiche

Age 30 anni

Gender Donna

Ethnicity Afroamericano

Morphology Cellule simili a quelle epiteliali con forma di pietra a mosaico

Growth properties Monostrato, aderente

Dati normativi

Citation HK EGFP-Kleisin-beta (numero di catalogo Cytion 300674)

Cellule HK EGFP-Kleisin-beta | 300674**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D64**Depositor** Il laboratorio Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: questa linea HeLa Kyoto contiene un costrutto EGFP-kleisin-beta per studi su cellule vive della coesina e dell'architettura cromosomica. Questa classificazione è valida solo in Germania e può differire in altri paesi.**Dati biomolecolari****Protein expression** EGFP-Kleisin- β : Posizione/Gene: 1..589 / Pcmv, 619..645 / Flag-tag, 661..1368 / GFP, 1393..3206 / Kleisin Beta, 4474..5268 KanR/NeoR**Manipolazione****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Split ratio** Si raccomanda un rapporto di 1:3**Seeding density** 1×10^4 cellule/cm²**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana**Post-Thaw Recovery** Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5×10^4 cellule/cm² e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.

Cellule HK EGFP-Kleisin-beta | 300674

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule HK EGFP-Kleisin-beta | 300674

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.