

HK EGFP-Kleisin-beta cellen | 300674

Algemene informatie

Description

De HK EGFP-Kleisin-beta cellijn vertegenwoordigt een genetisch gemodificeerde variant van HeLa Kyoto-cellen, voornamelijk ontworpen voor het bestuderen van chromosoomcohesie tijdens de celcyclus. Deze cellijn brengt een versterkt groen fluorescerend eiwit (EGFP) tot expressie dat is samengevoegd met het Kleisin-beta eiwit, een cruciaal onderdeel van het cohesinecomplex dat essentieel is voor de cohesie tussen zusterchromatiden. De expressie van EGFP-tagged Kleisin-beta maakt real-time visualisatie mogelijk van cohesinedynamiek en lokalisatie gedurende de celcyclus, waardoor gedetailleerde analyses van chromosoomstructuur en -functie in een cellulaire context mogelijk worden.

Dit celmodel wordt meestal gebruikt in onderzoek dat zich richt op de mechanismen van mitotische en meiotische chromosoomscheiding, waarbij vooral gekeken wordt naar hoe de regulatie van cohesine de genetische stabiliteit en celdeling beïnvloedt. De fluorescerende tagging van Kleisin-beta maakt het mogelijk om de interactie met andere cohesine componenten en chromosomale eiwitten te onderzoeken, wat inzicht geeft in de ruimtelijke en temporele assemblage van cohesine op chromosomen. Het gebruik van deze cellijn strekt zich uit tot studies van genetische aandoeningen en kankers waarbij de cohesinefunctie verstoord is, en biedt een waardevol hulpmiddel om de pathogenese te begrijpen en therapeutische strategieën te ontwikkelen.

Organism Mens

Tissue Baarmoederhals

Disease Carcinoom

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

Kenmerken

Age 30 jaar

Gender Vrouw

Ethnicity Afro-Amerikaan

Morphology Epitheelachtige cellen met mozaïeksteenvorm

Growth properties Monolaag, adherent

Regelgevende gegevens

Citation HK EGFP-Kleisin-beta (Cytion catalogusnummer 300674)

HK EGFP-Kleisin-beta cellen | 300674**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D64**Depositor** Het Ellenberg Lab (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Deze HeLa Kyoto-lijn bevat een EGFP-kleisin-beta-construct voor levende-celstudies van cohesine en chromosoomarchitectuur. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders verschillen.**Biomoleculaire gegevens****Protein expression** EGFP-Kleisin- β : Locatie/gen: 1..589 / Pcmv, 619..645 / Flag-tag, 661..1368 / GFP, 1393..3206 / Kleisin Beta, 4474..5268 KanR/NeoR**Omgaan met****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.**Split ratio** Een verhouding van 1:3 wordt aanbevolen**Seeding density** 1×10^4 cellen/cm²**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week**Post-Thaw Recovery** Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van 5×10^4 cellen/cm² en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.

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

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

HK EGFP-Kleisin-beta cellen | 300674

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.