

HK EGFP-Kleisin-beta-celler | 300674

Generell informasjon

Description

HK EGFP-Kleisin-beta-cellelinjen er en genmodifisert variant av HeLa Kyoto-celler som primært er utviklet for studier av kromosomkohesjon under cellesyklusen. Denne cellelinjen uttrykker et forsterket grønt fluorescerende protein (EGFP) som er fusjonert med Kleisin-beta-proteinet, en viktig komponent i kohesinkomplekset som er avgjørende for søsterkromatid-kohesjon. Uttrykket av EGFP-merket Kleisin-beta gjør det mulig å visualisere kohesindynamikk og lokalisering i sanntid gjennom hele cellesyklusen, noe som muliggjør detaljerte analyser av kromosomstruktur og -funksjon i en cellulær kontekst.

Denne cellemodellen brukes vanligvis i forskning som fokuserer på mekanismene bak mitotisk og meiotisk kromosomsegregering, og ser spesielt på hvordan regulering av kohesin påvirker genetisk stabilitet og celledeling. Den fluorescerende merkingen av Kleisin-beta gjør det mulig å undersøke samspillet med andre kohesinkomponenter og kromosomproteiner, noe som gir innsikt i den romlige og tidsmessige monteringen av kohesin på kromosomene. Denne cellelinjen kan også brukes til studier av genetiske sykdommer og kreftformer der kohesinfunksjonen er forstyrret, noe som gir et verdifullt verktøy for å forstå patogenesen og utvikle terapeutiske strategier.

Organism

Menneskelig

Tissue

Livmorhalsen

Disease

Karsinom

Synonyms

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

Kjennetegn

Age

30 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Afroamerikaner

Morphology

Epitel-lignende celler med mosaikksteinform

Growth properties

Monolag, vedheftende

Regulatoriske data

Citation

HK EGFP-Kleisin-beta (Cytion katalognummer 300674)

HK EGFP-Kleisin-beta-celler | 300674**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D64**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linjen inneholder en EGFP-kleisin-beta-konstruksjon for levende celleundersøkelser av kohesin og kromosomarkitektur. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan være annerledes andre steder.**Biomolekylære data****Protein expression** EGFP-Kleisin- β : Plassering/gen: 1..589 / Pcmv, 619..645 / Flag-tag, 661..1368 / GFP, 1393..3206 / Kleisin Beta, 4474..5268 KanR/NeoR**Håndtering****Culture Medium** DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** Et forhold på 1:3 anbefales**Seeding density** 1×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Post-Thaw Recovery** Etter tining, plasser cellene på 5×10^4 celler/cm² og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.

HK EGFP-Kleisin-beta-celler | 300674

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

HK EGFP-Kleisin-beta-celler | 300674

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.