

HK EGFP-Kleisin-beta-celler | 300674

Allmän information

Description

HK EGFP-Kleisin-beta-cellinjen är en genetiskt modifierad variant av HeLa Kyoto-cellerna, främst avsedd för studier av kromosomernas sammanhållning under cellcykeln. Denna cellinje uttrycker ett förstärkt grönt fluorescerande protein (EGFP) fusionerat med Kleisin-beta-proteinet, en viktig komponent i kohesinkomplexet som är avgörande för systerkromatidsammanhållning. Uttrycket av EGFP-märkt Kleisin-beta möjliggör visualisering i realtid av kohesindynamik och lokalisering under hela cellcykeln, vilket underlättar detaljerade analyser av kromosomstruktur och funktion i ett cellulärt sammanhang.

Denna cellmodell används vanligtvis i forskning som fokuserar på mekanismerna för mitotisk och meiotisk kromosomsegregering, särskilt med avseende på hur cohesins reglering påverkar genetisk stabilitet och celldelning. Den fluorescerande märkningen av Kleisin-beta gör det möjligt att undersöka dess interaktion med andra kohesinkomponenter och kromosomproteiner, vilket ger insikter i den rumsliga och tidsmässiga sammansättningen av cohesin på kromosomer. Användningen av denna cellinje sträcker sig till studier av genetiska sjukdomar och cancerformer där cohesinfunktionen är störd, vilket ger ett värdefullt verktyg för att förstå patogenesen och utveckla terapeutiska strategier.

Organism Människan

Tissue Cervix

Disease Carcinom

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

Egenskaper

Age 30 år

Gender Kvinna

Ethnicity Afroamerikan

Morphology Epitelliknande celler med mosaikstensform

Growth properties Monolager, vidhäftande

Lagstadgade uppgifter

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: Denna HeLa Kyoto-linje innehåller en EGFP-kleisin-beta-konstruktion för studier av kohezin och kromosomarkitektur i levande celler. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt i andra länder.**Biomolekylära data****Protein expression** EGFP-Kleisin- β : Plats/Gen: 1..589 / Pcmv, 619..645 / Flag-tag, 661..1368 / GFP, 1393..3206 / Kleisin Beta, 4474..5268 KanR/NeoR**Hantering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.**Split ratio** Ett förhållande på 1:3 rekommenderas**Seeding density** 1×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka**Post-Thaw Recovery** Efter upptining, plattlägg cellerna med 5×10^4 celler/cm² och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 24 timmar.

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

Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeskuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

HK EGFP-Kleisin-beta-celler | 300674

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.