

HK celice EGFP-Kleisin-beta | 300674

Splošne informacije

Description

Celična linija HK EGFP-Kleisin-beta je genetsko spremenjena različica celic HeLa Kyoto, ki je namenjena predvsem preučevanju kohezije kromosomov med celičnim ciklom. Ta celična linija izraža izboljšan zeleni fluorescenčni protein (EGFP), združen s proteinom Kleisin-beta, ključno sestavino kompleksa kohezina, ki je bistvenega pomena za kohezijo sestrskih kromatid. Izražanje Kleisina-beta z oznako EGFP omogoča vizualizacijo dinamike in lokalizacije kohezina v realnem času med celičnim ciklom, kar omogoča podrobne analize strukture in delovanja kromosomov v celičnem kontekstu.

Ta celični model se običajno uporablja pri raziskavah, ki se osredotočajo na mehanizme mitotične in mejotske segregacije kromosomov, zlasti pri preučevanju, kako regulacija kohezina vpliva na genetsko stabilnost in delitev celic. Fluorescenčno označevanje kleisina-beta omogoča raziskovanje njegove interakcije z drugimi komponentami kohezina in kromosomskimi proteini, kar omogoča vpogled v prostorsko in časovno sestavo kohezina na kromosomih. Uporaba te celične linije se razširi na študije genetskih motenj in raka, pri katerih je delovanje kohezina moteno, kar ponuja dragoceno orodje za razumevanje patogeneze in razvoj terapevtskih strategij.

Organism

Človek

Tissue

Maternični vrat

Disease

Karcinom

Synonyms

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

Značilnosti

Age

30 let

Gender

Ženske

Ethnicity

Afroameričan

Morphology

Epitelnim celicam podobne celice z obliko mozaičnih kamenčkov

Growth properties

Enoslojni, adherentni

Regulativni podatki

Citation

HK EGFP-Kleisin-beta (kataloška številka Cytion 300674)

HK celice EGFP-Kleisin-beta | 300674

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D64**Depositor** Laboratorij Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ta linija HeLa Kyoto vsebuje konstrukt EGFP-kleisin-beta za študije kohezina in kromosomske arhitekture v živih celicah. Ta klasifikacija velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.**Biomolekularni podatki****Protein expression** EGFP-Kleisin-β: 619..645 / Flag-tag, 661..1368 / GFP, 1393..3206 / Kleisin Beta, 4474..5268 KanR/NeoR**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Seeding density** 1×10^4 celic/cm²**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Post-Thaw Recovery** Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5×10^4 cel^{ic}/cm² in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

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

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenga s kriom.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

HK celice EGFP-Kleisin-beta | 300674

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.