

Клітини НК EGFP-Kleisin-beta | 300674

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія НК EGFP-Kleisin-beta являє собою генетично модифікований варіант клітин HeLa Kyoto, розроблений в першу чергу для вивчення когезії хромосом протягом клітинного циклу. Ця клітинна лінія експресує посилений зелений флуоресцентний білок (EGFP), злитий з білком Kleisin-beta, ключовим компонентом комплексу когезину, який є життєво важливим для зчеплення сестринських хроматид. Експресія EGFP-міченого Kleisin-beta дозволяє візуалізувати динаміку та локалізацію когезину в реальному часі протягом клітинного циклу, що полегшує детальний аналіз структури та функції хромосом у клітинному контексті.

Ця клітинна модель зазвичай використовується в дослідженнях, що фокусуються на механізмах мітотичної та мейотичної сегрегації хромосом, зокрема, на вивченні впливу регуляції когезину на генетичну стабільність і поділ клітин. Флуоресцентне мічення Kleisin-beta дозволяє досліджувати його взаємодію з іншими компонентами когезину та хромосомними білками, що дає уявлення про просторову та часову збірку когезину на хромосомах. Використання цієї клітинної лінії поширюється на дослідження генетичних розладів і раку, де функція когезину порушена, пропонуючи цінний інструмент для розуміння патогенезу і розробки терапевтичних стратегій.

Organism Людина

Tissue Шийка матки

Disease Карцинома

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

Характеристики

Age 30 років

Gender Жінка

Ethnicity Афроамериканець

Morphology Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю

Growth properties Одношаровий, адгезійний

Нормативні дані

Citation НК EGFP-Kleisin-beta (номер за каталогом Cytion 300674)

Клітини НК EGFP-Kleisin-beta | 300674

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D64**Depositor** Лабораторія Елленберга (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ця лінія HeLa Kyoto містить конструкцію EGFP-kleisin-beta для досліджень когезину та архітектури хромосом у живих клітинах. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Protein expression EGFP-Kleisin-β: Розташування/ген: 1..589 / Pcmv, 619.645 / Flag-tag, 661.1368 / GFP, 1393.3206 / Kleisin Beta, 4474.5268 KanR/NeoR

Обробка

Culture Medium DMEM, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO₃, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS**Dissociation Reagent** Аккутаза**Subculturing** Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.**Seeding density** 1×10^4 клітин/см²**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень**Post-Thaw Recovery** Після розморожування висійте клітини з щільністю 5×10^4 клітин/см² і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.

Клітини НК EGFP-Kleisin-beta | 300674

Freeze medium

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення криоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

Клітини НК EGFP-Kleisin-beta | 300674

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.