Product sheet

Клітини HK EGFP-Kleisin-beta | 300674

Загальна інформація

Description	Клітинна лінія HK 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	HK EGFP-Kleisin-beta (номер за каталогом Cytion 300674)

Клітини HK 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	ДМЕМ, 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 HK EGFP-Kleisin-beta | 300674

Freeze medium

Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого 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 кріовіал 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, зануривши 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 кріовіал 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 x 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% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Flask Coating

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

Клітини HK EGFP-Kleisin-beta | 300674

Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній 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 перевіреній 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, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.