HK EGFP-Kleisin-beta

300674

SPLOŠNE INFORMACIJE

Opis

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 kohezin, 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.

Tkivo	Maternični vrat
Bolezen	Karcinom

Sinonimi

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

RAZVRSTITEV

Organizem	Človek
Seks	Ženska
Lastnosti rasti	Pripadnik
Status GSO	GMO-S1

Podrobnosti o statusu GSO

GMO-S1: This HeLa Kyoto line contains an EGFP-kleisin-beta construct for live-cell studies of cohesin and chromosome architecture. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Stopnja biološke varnosti	1

ZNAČILNOSTI

Morfologija	Epitelnim celicam podobne celice z obliko mozaičnih kamenčkov

IDENTIFIKATORJI

Navajanje vira

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

Davčna identifikacijska številka NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_1D64
Vlagatelj	Laboratorij Ellenberg (EMBL)

IZRAŽANJE IN DOVZETNOST

Ekspresija beljakovin

EGFP-Kleisin-β: 619..645 / Flag-tag, 661..1368 / GFP, 1393..3206 / Kleisin Beta, 4474..5268 KanR/NeoR

RAVNANJE IN GOJENJE

Gojišče

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)

Inkubacijska atmosfera	37 °C, 5 %CO2, vlažno ozračje.

Prehranska dopolnila

Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Reagenca za disociacijo	Accutase

Preusmeritev v drugo kulturo

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. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Gostota setve	1 x 10^4 celic/cm^2
Obnova tekočine	2 do 3-krat na teden
Obnova po odtaljevanju	Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5 x 10^4 celic/cm^2 in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

Odtaljevanje in gojenje

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KONTROLA KAKOVOSTI IN KRIOPREZERVACIJA

Sterilnost

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.

Medij za zamrzovanje	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, povzročenega s kriom.

Pogoji shranjevanja

Za dolgotrajno shranjevanje viale 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.

Pogoji dostave

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 viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

DONATOR

Starost darovalca	30 let
Etnična pripadnost	Afroameričan

PRAVNE ZADEVE IN VARNOST

Varnostni ukrepi

Pri načrtovanju shranjevanja kriovialov v tekočem dušiku za kasnejše odtaljevanje je treba obvezno upoštevati stroge varnostne ukrepe. Nujni so ustrezne zaščitne rokavice in oblačila, med prenosom zamrznjenih vzorcev v rezervoar s tekočim dušikom ali iz njega pa je potrebna uporaba obrazne maske ali zaščitnih očal. S tem se zmanjša tveganje poškodb zaradi morebitnih eksplozij kriovialov pri odstranjevanju, ki lahko povzročijo izstrelitev ostrih delcev.

Garancija

V podjetju Cytion stojimo za kakovostjo in uporabnostjo svojih izdelkov.
Zagotavljamo, da bodo naše celice ob začetku gojenja še 60 dni po odpremi iz naših obratov vitalne.
Zagotavljamo, da so vsi materiali skladni s specifikacijami, opisanimi v potrdilu o analizi in/ali listu izdelka
Za vse podrobnosti si oglejte našo <a href=""/Kdo smo/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garancijsko izjavo

Veljajo pogodbe s tretjimi strankami	Yes