

## HK EGFP-Kleisin-beta-solut | 300674

## Yleisiä tietoja

## Description

HK EGFP-Kleisin-beta -solulinja on geneettisesti muunnettu HeLa Kyoto -solujen muunnos, joka on suunniteltu ensisijaisesti kromosomien yhteenkuuluvuuden tutkimiseen solusyklin aikana. Tämä solulinja ilmentää tehostettua vihreää fluoresoivaa proteiinia (EGFP), joka on fuusioitu Kleisin-beta-proteiiniin, joka on sisarkromatidien koheesion kannalta elintärkeän kohesiinikompleksin keskeinen osa. EGFP-merkityn Kleisin-beta:n ilmentäminen mahdollistaa kohesiinin dynamiikan ja lokalisoinnin reaaliaikaisen visualisoinnin koko solusyklin ajan, mikä helpottaa kromosomien rakenteen ja toiminnan yksityiskohtaista analysointia solukontekstissa.

Tätä solumallia hyödynnetään tyypillisesti tutkimuksessa, jossa keskitytään mitoottisen ja meioottisen kromosomierottelun mekanismeihin, erityisesti tarkasteltaessa, miten kohesiinin säätely vaikuttaa geneettiseen vakauteen ja solunjakautumiseen. Kleisin-beta:n fluoresoiva merkintä mahdollistaa sen vuorovaikutuksen tutkimisen muiden kohesiinikomponenttien ja kromosomiproteiinien kanssa, mikä antaa tietoa kohesiinin alueellisesta ja ajallisesta kokoontumisesta kromosomeihin. Tämän solulinjan käyttö ulottuu sellaisten geneettisten häiriöiden ja syöpien tutkimiseen, joissa kohesiinin toiminta on häiriintynyt, ja se tarjoaa arvokkaan välineen patogeneesin ymmärtämiseen ja hoitostrategioiden kehittämiseen.

**Organism** Ihminen

**Tissue** Kohdunkaula

**Disease** Syöpä

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

## Ominaisuudet

**Age** 30 vuotta

**Gender** Nainen

**Ethnicity** Afroamerikkalainen

**Morphology** Epiteelin kaltaiset solut, joilla on mosaiikkimaisen kiven muotoinen rakenne

**Growth properties** Yksikerroksinen, tarttuva

## Säätelytiedot

**Citation** HK EGFP-Kleisin-beta (Cytionin luettelonumero 300674)

## HK EGFP-Kleisin-beta-solut | 300674

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1D64**Depositor** Ellenbergin laboratorio (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Tämä HeLa Kyoto -linja sisältää EGFP-kleisin-beta-rakenteen koheesiinin ja kromosomien rakenteen elävien solujen tutkimusta varten. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.**Biomolekyylitiedot****Protein expression** EGFP-Kleisin-β: 589 / Pcmv, 619..645 / Flag-tag, 661..1368 / GFP, 1393..3206 / Kleisin Beta, 4474..5268 KanR/NeoR**Käsittely****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  solua/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Post-Thaw Recovery** Sulattamisen jälkeen levitä solut  $5 \times 10^4$  solua/cm<sup>2</sup> ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

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

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

**Flask Coating**

Ei mitään

**Freezing Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## HK EGFP-Kleisin-beta-solut | 300674

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.