

## HK EGFP-Kleisin-beta ląstelės | 300674

## Bendra informacija

## Description

HK EGFP-Kleisin-beta ląstelių linija yra genetiškai modifikuota HeLa Kyoto ląstelių atmaina, skirta chromosomų sanglaudos ląstelės ciklo metu tyrimams. Šioje ląstelių linijoje ekspresuojamas sustiprintas žaliasis fluorescencinis baltymas (EGFP), sujungtas su Kleisin-beta baltymu - svarbia kohezinų komplekso sudedamąja dalimi, kuri yra gyvybiškai svarbi seserinių chromatidžių sanglaudai. Su EGFP žymėtu Kleisin-beta galima realiuoju laiku vizualizuoti kohezinų dinamiką ir lokalizaciją per visą ląstelės ciklą, taip palengvinant išsamią chromosomų struktūros ir funkcijos analizę ląsteliniame kontekste.

Šis ląstelių modelis paprastai naudojamas atliekant tyrimus, kuriuose daugiausia dėmesio skiriama mitozės ir mejozės chromosomų segregacijos mechanizmams, ypač siekiant išsiaiškinti, kaip kohezinų reguliavimas veikia genetinį stabilumą ir ląstelių dalijimąsi. Kleisin-beta fluorescencinis žymėjimas leidžia ištirti jo sąveiką su kitais kohezinų komponentais ir chromosomų baltymais, todėl galima suprasti, kaip kohezinai erdvėje ir laike susikaupia ant chromosomų. Šią ląstelių liniją galima naudoti tiriant genetinius sutrikimus ir vėžinius susirgimus, kai kohezinų funkcija yra sutrikusi, todėl ji yra vertinga priemonė, padedanti suprasti patogenezę ir kurti gydymo strategijas.

**Organism** Žmogus

**Tissue** Gimdos kaklelis

**Disease** Karcinoma

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

## Charakteristikos

**Age** 30 metų

**Gender** Moteris

**Ethnicity** Afroamerikietis

**Morphology** | epitelį panašios ląstelės su mozaikos formos akmenukais

**Growth properties** Viensluoksnis, prigludęs

## Reguliavimo duomenys

**Citation** HK EGFP-Kleisin-beta (Cytion katalogo numeris 300674)

## HK EGFP-Kleisin-beta ląstelės | 300674

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1D64

**Depositor** Ellenbergo laboratorija (EMBL)

**GMO Status** GMO-S1: Ši HeLa Kyoto linija turi EGFP-kleisin-beta konstrukta, skirtą gyvų ląstelių kohezino ir chromosomų struktūros tyrimams. Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

### Biomolekuliniai duomenys

**Protein expression** EGFP-Kleisin-β: 589 / Pcmv, 619..645 / Flag-tag, 661..1368 / GFP, 1393..3206 / Kleisin Beta, 4474..5268 KanR/NeoR

### Tvarkymas

**Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  ląstelės/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę

**Post-Thaw Recovery** Atšildžius, išdėliokite ląsteles  $5 \times 10^4$  ląstelių/cm<sup>2</sup> tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

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

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

**Flask Coating**

Nėra

**Freezing Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## HK EGFP-Kleisin-beta ląstelės | 300674

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.