

## HK EGFP-Kleisin-beta šūnas | 300674

## Vispārīga informācija

## Description

HK EGFP-Kleisin-beta šūnu līnija ir ģenētiski modificēts HeLa Kyoto šūnu variants, kas galvenokārt paredzēts hromosomu kohēzijas izpētei šūnu cikla laikā. Šī šūnu līnija ekspresē pastiprinātu zaļo fluorescējošo proteīnu (EGFP), kas saplūdis ar Kleisin-beta proteīnu, kas ir būtiska kohezīna kompleksa sastāvdaļa, kura ir būtiska māsas hromatīdu kohēzijai. Ar EGFP marķēta Kleisin-beta ekspresija ļauj reāllaikā vizualizēt kohezīna dinamiku un lokalizāciju visā šūnu ciklā, atvieglojot detalizētu hromosomu struktūras un funkcijas analīzi šūnu kontekstā.

Šo šūnu modeli parasti izmanto pētījumos, kas koncentrējas uz mitotiskās un meiotiskās hromosomu segregācijas mehānismiem, jo īpaši pētīt, kā kohezīna regulācija ietekmē ģenētisko stabilitāti un šūnu dalīšanos. Kleisin-beta fluorescējoša marķēšana ļauj izpētīt tā mijiedarbību ar citiem kohezīna komponentiem un hromosomu proteīniem, sniedzot ieskatu par kohezīna telpisko un laika ziņā notiekošo montāžu uz hromosomām. Šo šūnu līniju var izmantot arī pētījumos par ģenētiskiem traucējumiem un vēzi, kur kohezīna funkcija ir traucēta, piedāvājot vērtīgu instrumentu, lai izprastu patoģenēzi un izstrādātu terapeitiskās stratēģijas.

**Organism** Cilvēks

**Tissue** Dzemdes kakls

**Disease** Karcinoma

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

## Raksturojums

**Age** 30 gadi

**Gender** Sievietes

**Ethnicity** Afroamerikānis

**Morphology** Epitēlijveidīgas šūnas ar mozaikveida akmens formu

**Growth properties** Vienslāņa, adhēzija

## Normatīvie dati

**Citation** HK EGFP-Kleisin-beta (Cytion kataloga numurs 300674)

**Biosafety level** 1

## HK EGFP-Kleisin-beta šūnas | 300674

**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1D64**Depositor** Ellenberga laboratorija (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Šī HeLa Kyoto līnija satur EGFP-kleisin-beta konstrukciju dzīvo šūnu pētījumiem par kohezīnu un hromosomu arhitektūru. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.

## Biomolekulārie dati

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

## Darbs ar

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu  $5 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup> un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanas un samazinātu krioinducēto stresu.

**HK EGFP-Kleisin-beta šūnas | 300674****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation  
Atmosphere**

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

**Flask Coating**

Neviens

**Freezing  
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

## HK EGFP-Kleisin-beta šūnas | 300674

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.