

**Komórki HK EGFP-Kleisin-beta | 300674****Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa HK EGFP-Kleisin-beta reprezentuje genetycznie zmodyfikowany wariant komórek HeLa Kyoto, zaprojektowany głównie do badania kohezji chromosomów podczas cyklu komórkowego. Ta linia komórkowa wyraża wzmocnione zielone białko fluorescencyjne (EGFP) połączone z białkiem Kleisin-beta, kluczowym składnikiem kompleksu kohezyny, który jest niezbędny dla spójności chromatyd siostrzanych. Ekspresja znakowanej EGFP Kleisin-beta pozwala na wizualizację w czasie rzeczywistym dynamiki i lokalizacji kohezyny w całym cyklu komórkowym, ułatwiając szczegółowe analizy struktury i funkcji chromosomów w kontekście komórkowym.

Ten model komórkowy jest zwykle wykorzystywany w badaniach koncentrujących się na mechanizmach segregacji chromosomów mitotycznych i mejotycznych, w szczególności w celu zbadania, w jaki sposób regulacja kohezyny wpływa na stabilność genetyczną i podział komórek. Fluorescencyjne znakowanie Kleisin-beta umożliwia badanie jej interakcji z innymi składnikami kohezyny i białkami chromosomalnymi, zapewniając wgląd w przestrzenny i czasowy montaż kohezyny na chromosomach. Zastosowanie tej linii komórkowej rozciąga się na badania zaburzeń genetycznych i nowotworów, w których zaburzona jest funkcja kohezyny, oferując cenne narzędzie do zrozumienia patogenezы i opracowania strategii terapeutycznych.

**Organism** Człowiek**Tissue** Szyjka macicy**Disease** Rak**Synonyms** HeLa Kyoto EGFP Kleisin-b, HeLa Kyoto Kleisin-beta EGFP**Charakterystyka****Age** 30 lat**Gender** Kobieta**Ethnicity** Afroamerykanin**Morphology** Komórki podobne do nabłonka o mozaikowym kształcie kamienia**Growth properties** Monowarstwa, przylegająca**Dane regulacyjne****Citation** HK EGFP-Kleisin-beta (numer katalogowy Cytion 300674)

**Komórki HK EGFP-Kleisin-beta | 300674****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1D64**Depositor** Laboratorium Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ta linia HeLa Kyoto zawiera konstrukt EGFP-kleisin-beta do badań na żywych komórkach dotyczących kohezyny i architektury chromosomów. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie w Niemczech i może się różnić w innych krajach.**Dane biomolekularne****Protein expression** EGFP-Kleisin-β: Lokalizacja/gen: 1..589 / Pcmv, 619..645 / Flag-tag, 661..1368 / GFP, 1393..3206 / Kleisin Beta, 4474..5268 KanR/NeoR**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzuppełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:3**Seeding density**  $1 \times 10^4$  kom<sup>órek</sup>/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Post-Thaw Recovery** Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości  $5 \times 10^4$  komórek/cm<sup>2</sup> i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

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

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

**Flask Coating**

Brak

## Komórki HK EGFP-Kleisin-beta | 300674

### Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.