

**Células HK EGFP-Kleisin-beta | 300674****Informações gerais****Description**

A linha celular HK EGFP-Kleisin-beta representa uma variante geneticamente modificada das células HeLa Kyoto, concebida principalmente para o estudo da coesão cromossômica durante o ciclo celular. Esta linha celular exprime uma proteína verde fluorescente melhorada (EGFP) em fusão com a proteína Kleisin-beta, um componente crucial do complexo coesina que é vital para a coesão das cromátides irmãs. A expressão da Kleisin-beta marcada com EGFP permite a visualização em tempo real da dinâmica e localização da coesina ao longo do ciclo celular, facilitando análises detalhadas da estrutura e função dos cromossomas num contexto celular.

Este modelo celular é tipicamente utilizado em investigação centrada nos mecanismos de segregação cromossômica mitótica e meiótica, analisando particularmente a forma como a regulação da coesina influencia a estabilidade genética e a divisão celular. A marcação fluorescente da Kleisin-beta permite a investigação da sua interação com outros componentes da cohesina e proteínas cromossômicas, fornecendo informações sobre a montagem espacial e temporal da cohesina nos cromossomas. A utilização desta linha celular estende-se a estudos de doenças genéticas e cancro em que a função da cohesina está perturbada, oferecendo uma ferramenta valiosa para compreender a patogénese e desenvolver estratégias terapêuticas.

**Organism** Humano**Tissue** Colo do útero**Disease** Carcinoma**Synonyms** HeLa Kyoto EGFP Kleisin-b, HeLa Kyoto Kleisin-beta EGFP**Caraterísticas****Age** 30 anos**Gender** Feminino**Ethnicity** Afro-americano**Morphology** Células de tipo epitelial com forma de pedra em mosaico**Growth properties** Monocamada, aderente**Dados regulamentares****Citation** HK EGFP-Kleisin-beta (número de catálogo Cytion 300674)

**Células HK EGFP-Kleisin-beta | 300674****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1D64**Depositor** O Laboratório Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Esta linha HeLa Kyoto contém uma construção EGFP-kleisin-beta para estudos em células vivas da coesina e da arquitetura cromossômica. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.**Dados biomoleculares****Protein expression** EGFP-Kleisin-β: Localização/Gene: 1..589 / Pcmv, 619..645 / Flag-tag, 661..1368 / GFP, 1393..3206 / Kleisin Beta, 4474..5268 KanR/NeoR**Manuseamento****Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Post-Thaw Recovery** Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de  $5 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

## Células HK EGFP-Kleisin-beta | 300674

### Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

## Células HK EGFP-Kleisin-beta | 300674

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.