

## Клітини НК EGFP-Kleisin-beta | 300674

## Загальна інформація

## Description

Клітинна лінія НК EGFP-Kleisin-beta являє собою генетично модифікований варіант клітин HeLa Kyoto, розроблений в першу чергу для вивчення когезії хромосом протягом клітинного циклу. Ця клітинна лінія експресує посилений зелений флуоресцентний білок (EGFP), злитий з білком Kleisin-beta, ключовим компонентом комплексу когезину, який є життєво важливим для зчеплення сестринських хроматид. Експресія EGFP-міченого Kleisin-beta дозволяє візуалізувати динаміку та локалізацію когезину в реальному часі протягом клітинного циклу, що полегшує детальний аналіз структури та функції хромосом у клітинному контексті.

Ця клітинна модель зазвичай використовується в дослідженнях, що фокусуються на механізмах мітотичної та мейотичної сегрегації хромосом, зокрема, на вивченні впливу регуляції когезину на генетичну стабільність і поділ клітин. Флуоресцентне мічення Kleisin-beta дозволяє досліджувати його взаємодію з іншими компонентами когезину та хромосомними білками, що дає уявлення про просторову та часову збірку когезину на хромосомах. Використання цієї клітинної лінії поширюється на дослідження генетичних розладів і раку, де функція когезину порушена, пропонуючи цінний інструмент для розуміння патогенезу і розробки терапевтичних стратегій.

**Organism** Людина

**Tissue** Шийка матки

**Disease** Карцинома

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

## Характеристики

**Age** 30 років

**Gender** Жінка

**Ethnicity** Афроамериканець

**Morphology** Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю

**Growth properties** Одношаровий, адгезійний

## Нормативні дані

**Citation** НК EGFP-Kleisin-beta (номер за каталогом Cytion 300674)

## Клітини НК EGFP-Kleisin-beta | 300674

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1D64**Depositor** Лабораторія Елленберга (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ця лінія HeLa Kyoto містить конструкцію EGFP-kleisin-beta для досліджень когезину та архітектури хромосом у живих клітинах. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

## Біомолекулярні дані

**Protein expression** EGFP-Kleisin-β: Розташування/ген: 1..589 / Pcmv, 619.645 / Flag-tag, 661.1368 / GFP, 1393.3206 / Kleisin Beta, 4474.5268 KanR/NeoR

## Обробка

**Culture Medium** ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS**Dissociation Reagent** Аккутаза**Subculturing** Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень**Post-Thaw Recovery** Після розморожування висійте клітини з щільністю  $5 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup> і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.

**Клітини НК EGFP-Kleisin-beta | 300674****Freeze medium**

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення криоіндукованого стресу.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

**Flask Coating**

Ні

## Клітини НК EGFP-Kleisin-beta | 300674

### Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.