# HK EGFP-Kleisin-beta

300674

## OBECNÉ INFORMACE

### Popis

Buněčná linie HK EGFP-Kleisin-beta představuje geneticky modifikovanou variantu buněk Hela Kyoto určenou především ke studiu soudržnosti chromozomů během buněčného cyklu. Tato buněčná linie exprimuje zesílený zelený fluorescenční protein (EGFP) spojený s proteinem Kleisin-beta, klíčovou složkou kohesinového komplexu, který je nezbytný pro soudržnost sesterských chromatid. Exprese Kleisinu-beta značeného EGFP umožňuje v reálném čase vizualizovat dynamiku a lokalizaci kohezinu v průběhu buněčného cyklu, což usnadňuje podrobné analýzy struktury a funkce chromozomů v buněčném kontextu.
Tento buněčný model se obvykle využívá ve výzkumu zaměřeném na mechanismy mitotické a meiotické segregace chromozomů, zejména při zkoumání vlivu regulace kohezinu na genetickou stabilitu a buněčné dělení. Fluorescenční značení Kleisinu-beta umožňuje zkoumat jeho interakce s dalšími složkami kohezinu a chromozomálními proteiny, což umožňuje nahlédnout do prostorového a časového uspořádání kohezinu na chromozomech. Využití této buněčné linie se rozšiřuje na studium genetických poruch a rakoviny, kde je funkce kohezinu narušena, a nabízí tak cenný nástroj pro pochopení patogeneze a vývoj terapeutických strategií.

| | |
|---|---|
| **Tkáň** | Cervix |
| **Nemoc** | Karcinom |

### Synonyma

- HeLa Kyoto EGFP Kleisin-b
- HeLa Kyoto Kleisin-beta EGFP

## KLASIFIKACE

| | |
|---|---|
| **Organismus** | Člověk |
| **Sex** | Žena |
| **Růstové vlastnosti** | Přívrženec |
| **Stav GMO** | GMO-S1 |

### Podrobnosti o statusu GMO

GMO-S1: This HeLa Kyoto line contains an EGFP-kleisin-beta construct for live-cell studies of cohesin and chromosome architecture. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

| | |
|---|---|
| **Úroveň biologické bezpečnosti** | 1 |

## CHARAKTERISTIKA

| | |
|---|---|
| **Morfologie** | Buňky podobné epitelu s mozaikovitým tvarem kamínků |

## IDENTIFIKÁTORY

### Citace

HK EGFP-Kleisin-beta (katalogové číslo Cytion 300674)

| | |
|---|---|
| **Daňové identifikační číslo NCBI** | 9606 |
| **Cellosaurus** | CVCL_1D64 |
| **Vkladatel** | Ellenbergova laboratoř (EMBL) |

## EXPRESE A NÁCHYLNOST

### Exprese proteinů

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

## MANIPULACE A CHOV

### Pěstovací médium

DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

| | |
|---|---|
| **Inkubační atmosféra** | 37 °C, 5 %CO2, zvlhčená atmosféra. |

### Doplňky stravy

Doplňte médium o 10% FBS

| | |
|---|---|
| **Disociační činidlo** | Accutase |

### Subkultivace

Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

| | |
|---|---|
| **Hustota výsevu** | 1 x $10^4$ buněk/$cm^2$ |
| **Obnova tekutin** | 2 až 3krát týdně |
| **Zotavení po rozmrazení** | Po rozmrazení naneste buňky v množství 5 x $10^4$ buněk/$cm^2$ a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout. |

### Rozmrazování a kultivace

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

## KONTROLA KVALITY A KRYOKONZERVACE

### Sterilita

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

| | |
|---|---|
| **Mrazicí médium** | Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo. |

**Podmínky skladování**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

**Dopravní podmínky**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

## DÁRCE

| | |
|---|---|
| **Věk dárce** | 30 let |
| **Etnická příslušnost** | Afroameričan |

## PRÁVNÍ INFORMACE A BEZPEČNOSTNÍ POKYNY

**Bezpečnostní opatření**

Při plánování uložení kryovialu v kapalném dusíku pro budoucí rozmrazení je nutné dodržovat přísná bezpečnostní opatření. Nezbytné jsou vhodné ochranné rukavice a oděv a při přenášení zmrazených vzorků do nádrže s kapalným dusíkem nebo z ní je nutné používat obličejovou masku nebo ochranné brýle. To proto, aby se snížilo riziko zranění v důsledku možných výbuchů kryovialů při jejich vyjímání, které mohou mít za následek vystřelování ostrých úlomků.

**Záruka**

Ve společnosti Cytion si stojíme za kvalitou a životaschopností našich produktů.
Zaručujeme, že naše buňky budou životaschopné na začátku kultivace po dobu 60 dnů po odeslání z našich zařízení.
Zaručujeme, že všechny materiály odpovídají specifikacím popsaným v certifikátu analýzy a/nebo v produktovém listu
Úplné informace naleznete v našem <a href=""/Kdo-jsme/Záruka/"" hreflang=""x-default"">Záručním prohlášení

| | |
|---|---|
| **Platí smlouvy s třetími stranami** | Yes |