# HK EGFP-Kleisin-beta

300674

## YLEISTÄ TIETOA

### Kuvaus

HK EGFP-Kleisin-beta -solulinja on geneettisesti muunnettu Hela Kyoto -solujen muunnos, joka on suunniteltu ensisijaisesti kromosomien yhteenkuuluvuuden tutkimiseen solusyklin aikana. Tämä solulinja ilmentää tehostettua vihreää fluoresoivaa proteiinia (EGFP), joka on fuusioitu Kleisin-beta-proteiiniin, joka on sisarkromatidien koheesion kannalta elintärkeän kohesiinikompleksin keskeinen osa. EGFP-merkityn Kleisin-beta:n ilmentäminen mahdollistaa kohesiinin dynamiikan ja lokalisoinnin reaaliaikaisen visualisoinnin koko solusyklin ajan, mikä helpottaa kromosomien rakenteen ja toiminnan yksityiskohtaista analysointia solukontekstissa.
Tätä solumallia hyödynnetään tyypillisesti tutkimuksessa, jossa keskitytään mitoottisen ja meioottisen kromosomierottelun mekanismeihin, erityisesti tarkasteltaessa, miten kohesiinin säätely vaikuttaa geneettiseen vakauteen ja solunjakautumiseen. Kleisin-beta:n fluoresoiva merkintä mahdollistaa sen vuorovaikutuksen tutkimisen muiden kohesiinikomponenttien ja kromosomiproteiinien kanssa, mikä antaa tietoa kohesiinin alueellisesta ja ajallisesta kokoontumisesta kromosomeihin. Tämän solulinjan käyttö ulottuu sellaisten geneettisten häiriöiden ja syöpien tutkimiseen, joissa kohesiinin toiminta on häiriintynyt, ja se tarjoaa arvokkaan välineen patogeneesin ymmärtämiseen ja hoitostrategioiden kehittämiseen.

| | |
|---|---|
| **Kudos** | Kohdunkaula |
| **Sairaus** | Syöpä |

### Synonyymit

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

## LUOKITTELU

| | |
|---|---|
| **Organismi** | Ihminen |
| **Sukupuoli** | Nainen |
| **Kasvuominaisuudet** | Kiinnittynyt |
| **GMO-status** | GMO-S1 |

### GMO-statuksen tiedot

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.

| | |
|---|---|
| **Bioturvallisuustaso** | 1 |

## OMINAISUUDET

| | |
|---|---|
| **Morfologia** | Epiteelin kaltaiset solut, joilla on mosaiikkimaisen kiven muotoinen rakenne |

## TUNNISTEET

### Lähdeviite

HK EGFP-Kleisin-beta (Cytionin luettelonumero 300674)

| | |
|---|---|
| **NCBI-verotunnus** | 9606 |
| **Cellosaurus** | CVCL_1D64 |

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

| | |
|---|---|
| **Tallettaja** | Ellenbergin laboratorio (EMBL) |

## ILMENTYMINEN JA ALTTIUS

### Proteiinin ilmentyminen

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

## KÄSITTELY JA VILJELY

### Viljelyalusta

DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

| | |
|---|---|
| **Inkubaatioilma** | 37 °C, 5 %CO2, kostutettu ilmakehä. |

### Ravintolisät

Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

| | |
|---|---|
| **Dissosiaatioreagenssi** | Accutase |

### Soluviljely

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

| | |
|---|---|
| **Kylvötiheys** | 1 x $10^4$ solua/$cm^2$ |
| **Nesteen uusiminen** | 2-3 kertaa viikossa |
| **Sulamisen jälkeinen palautuminen** | Sulattamisen jälkeen levitä solut 5 x $10^4$ solua/$cm^2$ ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan. |

### Sulatus ja viljely

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.

## LAADUNVALVONTA JA KRYOSÄILYTYS

### Hedelmättömyys

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.
Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

| | |
|---|---|
| **Jäädytysaine** | Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä. |

**Säilytysolosuhteet**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

**Toimitusehdot**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## LAHJOITTAJA

| | |
|---|---|
| **Luovuttajan ikä** | 30 vuotta |
| **Etnisyys** | Afroamerikkalainen |

## OIKEUDELLISET JA TURVALLISUUSASIAT

**Turvallisuusohjeet**

Kun suunnitellaan kryoputken säilyttämistä nestemäisessä typessä sulatusta varten, on noudatettava tiukkoja turvatoimenpiteitä. Asianmukaiset suojakäsineet ja -vaatteet ovat välttämättömiä, ja kasvonaamarin tai suojalasien käyttö on välttämätöntä siirrettäessä jäädytettyjä näytteitä nestetyppisäiliöön tai siitä pois. Tällä pyritään pienentämään loukkaantumisriskiä, joka aiheutuu kryoputkien mahdollisista räjähdyksistä, jotka voivat aiheuttaa terävien sirpaleiden sinkoutumisen.

**Takuu**

Me Cytionilla seisomme tuotteidemme laadun ja elinkelpoisuuden takana.
Takaamme, että solumme ovat elinkelpoisia viljelyn alkaessa 60 päivän ajan sen jälkeen, kun ne on lähetetty laitoksestamme.
Vakuutamme, että kaikki materiaalit ovat analyysitodistuksessa ja/tai tuoteselosteessa kuvattujen eritelmien mukaisia
Lisätietoja on <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Takuulausumassa

| | |
|---|---|
| **Sovelletaan kolmansien osapuolten kanssa tehtyjä sopimuksia** | Yes |