

Buňky HK-2xZFN-Smc4-mEGFP | 301576**Obecné informace****Description**

Buněčná linie HK-2xZFN-Smc4-mEGFP je odvozena z buněk HeLa Kyoto a vytvořena pomocí technologie Zinc Finger Nuclease (ZFN), která je zaměřena na gen Smc4. Smc4 je klíčový pro kondenzaci a segregaci chromozomů během buněčného dělení. Tato modifikace pomáhá vědcům studovat dynamiku a stabilitu chromozomů.

Tato buněčná linie je také vybavena značkou monomerního zesíleného zeleného fluorescenčního proteinu (mEGFP), která umožňuje vizualizaci buněčných procesů v reálném čase. Značka mEGFP usnadňuje pozorování exprese a lokalizace Smc4, což napomáhá vysoce výkonnému screeningu a zobrazování živých buněk. Buněčná linie HK-2xZFN-Smc4-mEGFP je cenným nástrojem pro studium chromozomálního chování a funkce genů.

Organism Člověk**Tissue** Endocervix**Disease** Adenokarcinom**Charakteristika****Age** 30 let**Gender** Ženy**Ethnicity** Afroameričan**Morphology** Buňky podobné epitelu s mozaikovitým tvarem kamínků**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje****Citation** HK-2xZFN-Smc4-mEGFP (katalogové číslo Cytion 301576)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FT**Depositor** Ellenbergova laboratoř (EMBL)

Buňky HK-2xZFN-Smc4-mEGFP | 301576

GMO Status GMO-S1: Tato linie HeLa Kyoto obsahuje ZFN-engineered mEGFP tag na Smc4 pro studium dynamiky kondenzace chromozomů. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Products EGFP (zesílený zelený fluorescenční protein)

Zpracování

Culture Medium 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)

Supplements Doplněte médium o 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstraňte staré médium z adheovaných 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 odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustěte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio Doporučuje se poměr 1:5 na začátku a až 1:15 po založení kultury

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Freeze medium 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 kryem.

Buňky HK-2xZFN-Smc4-mEGFP | 301576**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

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.

**Shipping
Conditions**

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.

Buňky HK-2xZFN-Smc4-mEGFP | 301576

Storage Conditions

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.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

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.