

Buňky HK EGFP-H2B | 300673

Obecné informace

Description

Buněčná linie HK EGFP-H2B je geneticky modifikovaná buněčná linie HeLa Kyoto, která se používá především ke studiu dynamiky chromatinu a jaderných procesů. Tato buněčná linie exprimuje fúzní protein skládající se ze zeleného fluorescenčního proteinu (EGFP) a histonu H2B. Integrace EGFP do proteinu H2B umožňuje vizualizaci chromatinu v živých buňkách v reálném čase pod fluorescenčním mikroskopem, což poskytuje cenné poznatky o prostorové a časové organizaci jádra.

Fúze EGFP-H2B usnadňuje řadu aplikací v buněčné biologii, včetně studia průběhu buněčného cyklu, mitózy a regulace genové exprese. Pozorováním fluorescenčních vzorců mohou vědci identifikovat a analyzovat fáze buněčného cyklu, chromozomální segregaci a strukturální změny v jádře. Tato buněčná linie je odvozena z dospělých lidských buněk, což zajišťuje její relevanci pro lidskou biologii, a využívá se jak v základním biologickém výzkumu, tak v aplikovanějších farmaceutických studiích.

Buněčná linie HK EGFP-H2B navíc slouží jako klíčový nástroj ve výzkumu epigenetiky. Možnost přímo pozorovat chování histonů pomáhá pochopit epigenetické mechanismy, které jsou základem genové exprese a umlčování, a také účinky různých epigenetických modifikátorů. Robustní použití buněčné linie v experimentech se zobrazováním živých buněk ji činí nepostradatelnou pro podrobné studie vyžadující dynamickou buněčnou analýzu.

Organism Člověk

Tissue Cervix

Disease Karcinom

Synonyms HeLa Kyoto H2B-EGFP, HeLa Kyoto H2B EGFP, HeLa-H2B-GFP

Charakteristika

Age 30 let

Gender Ženy

Ethnicity Afroameričan

Morphology Buňky podobné epitelu s mozaikovitým tvarem kamínků

Growth properties Monovrstva, adherentní

Regulační údaje

Buňky HK EGFP-H2B | 300673

Citation	HK EGFP-H2B (katalogové číslo Cytion 300673)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D63
Depositor	Ellenbergova laboratoř (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Tato linie HeLa Kyoto obsahuje konstrukt EGFP-H2B, který umožňuje vizualizaci organizace chromatinu v reálném čase. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Protein expression	EGFP-H2B: Umístění/geny: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR
Products	Promotor CMV, histon H2B, neomycin, fosfotransferáza

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčičku. 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 rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Seeding density	1 x 10 ⁴ buněk/cm ²
Fluid renewal	2 až 3krát týdně

Buňky HK EGFP-H2B | 300673**Post-Thaw Recovery**

Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.

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 kryo.

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 zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazícího 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 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Buňky HK EGFP-H2B | 300673

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.

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.

Alely HLA

A*: '68:02:01
B*: '15:03:01
C*: '12:03:01
DRB1*: '01:02:01
DQA1*: '01:01:02
DQB1*: '05:01:01
DPB1*: '01:01:01
E: '01:03:02