

HK EGFP-H2B-solut | 300673

Yleisiä tietoja

Description

HK EGFP-H2B -solulinja on geneettisesti muunnettu HeLa Kyoto -solulinja, jota käytetään pääasiassa kromatiinin dynamiikan ja ydinprosessien tutkimiseen. Tämä solulinja ilmentää fuusioproteiinia, joka koostuu tehostetusta vihreästä fluoresoivasta proteiinista (EGFP) ja histoni H2B:stä. EGFP:n integrointi H2B-proteiiniin mahdollistaa kromatiinin reaaliaikaisen visualisoinnin elävissä soluissa fluoresenssimikroskopiassa, mikä antaa arvokasta tietoa ytimen alueellisesta ja ajallisesta organisaatiosta.

EGFP-H2B-fuusio helpottaa lukuisia sovelluksia solubiologiassa, kuten solusyklin etenemisen, mitoosin ja geeniekspression säätelyn tutkimista. Fluoresenssikuvia tarkkailemalla tutkijat voivat tunnistaa ja analysoida solusyklin vaiheita, kromosomien erottumista ja tuman rakenteellisia muutoksia. Tämä solulinja on johdettu aikuisen ihmisen soluista, mikä takaa sen merkityksen ihmisen biologian kannalta, ja sitä käytetään sekä biologisessa perustutkimuksessa että soveltavammissa farmaseuttisissa tutkimuksissa.

Lisäksi HK EGFP-H2B -solulinja on tärkeä väline epigenetiikan tutkimuksessa. Mahdollisuus tarkkailla suoraan histonien käyttäytymistä auttaa ymmärtämään geenien ilmentymisen ja vaimentamisen taustalla olevia epigeneettisiä mekanismeja sekä erilaisten epigeneettisten muuntajien vaikutuksia. Solulinjan vankka käyttö elävien solujen kuvantamiskokeissa tekee siitä välttämättömän yksityiskohtaisissa tutkimuksissa, jotka edellyttävät dynaamista soluanalyysia.

Organism Ihminen

Tissue Kohdunkaula

Disease Syöpä

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

Ominaisuudet

Age 30 vuotta

Gender Nainen

Ethnicity Afroamerikkalainen

Morphology Epiteelin kaltaiset solut, joilla on mosaiikkimaisen kiven muotoinen rakenne

Growth properties Yksikerroksinen, tarttuva

Säätelytiedot

HK EGFP-H2B-solut | 300673

Citation	HK EGFP-H2B (Cytionin luettelonumero 300673)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D63
Depositor	Ellenbergin laboratorio (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Tämä HeLa Kyoto -linja sisältää EGFP-H2B-rakenteen, joka mahdollistaa kromatiinin rakenteen reaaliaikaisen visualisoinnin. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.

Biomolekyyli tiedot

Protein expression	EGFP-H2B: Sijainti/geeni: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR
Products	CMV-promoottori, histoni H2B, neomysiini, fosfotransferaasi, fosfotransferaasi

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	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 tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliainetta.
Seeding density	1 x 10 ⁴ solua/cm ²
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa

HK EGFP-H2B-solut | 300673

Post-Thaw Recovery

Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

Freeze medium

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 osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektioipullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektioipullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektioipullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

HK EGFP-H2B-solut | 300673

Freezing Procedure

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.

Shipping Conditions

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.

Storage Conditions

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

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

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