

HK EGFP-H2B šūnas | 300673

Vispārīga informācija

Description

HK EGFP-H2B šūnu līnija ir ģenētiski modificēta HeLa Kyoto šūnu līnija, ko galvenokārt izmanto hromatīna dinamikas un kodola procesa pētījumiem. Šī šūnu līnija ekspresē saplūšanas proteīnu, kas sastāv no pastiprināta zaļā fluorescējošā proteīna (EGFP) un histona H2B. EGFP integrācija H2B proteīnā ļauj reāllaika hromatīna vizualizāciju dzīvās šūnās fluorescences mikroskopijā, sniedzot vērtīgu ieskatu par kodola telpisko un laika organizāciju.

EGFP-H2B saplūšana atvieglo daudzus lietojumus šūnu bioloģijā, tostarp šūnu cikla norises, mitozes un gēnu ekspresijas regulēšanas pētījumus. Novērojot fluorescences modeļus, pētnieki var identificēt un analizēt šūnu cikla fāzes, hromosomu segregāciju un strukturālās izmaiņas kodolā. Šī šūnu līnija ir iegūta no pieauguša cilvēka šūnām, tādējādi nodrošinot tās atbilstību cilvēka bioloģijai, un to izmanto gan fundamentālajos bioloģiskajos pētījumos, gan lietišķos farmācijas pētījumos.

Turklāt HK EGFP-H2B šūnu līnija kalpo kā svarīgs instruments epigenētikas pētījumos. Iespēja tieši novērot histonu uzvedību palīdz izprast epigenētiskos mehānismus, kas ir gēnu ekspresijas un slāpēšanas pamatā, kā arī dažādu epigenētisko modifikatoru ietekmi. Šūnu līnijas plašā pielietošana dzīvu šūnu attēlveidošanas eksperimentos padara to neaizstājamu detalizētos pētījumos, kuros nepieciešama dinamiska šūnu analīze.

Organism Cilvēks

Tissue Dzemdes kakls

Disease Karcinoma

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

Raksturojums

Age 30 gadi

Gender Sievietes

Ethnicity Afroamerikānis

Morphology Epitēlijveidīgas šūnas ar mozaikveida akmens formu

Growth properties Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

HK EGFP-H2B šūnas | 300673

Citation	HK EGFP-H2B (Cytion kataloga numurs 300673)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D63
Depositor	Ellenberga laboratorija (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Šī HeLa Kyoto līnija satur EGFP-H2B konstrukciju, kas ļauj reāllaikā vizualizēt hromatīna organizāciju. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Protein expression	EGFP-H2B: Atrašanās vieta/gēns: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR
Products	CMV Promotors, Histons H2B, Neomicīns, Fosfotransferāze

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Seeding density	1×10^4 šūnas/cm ²
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā

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

Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārlicinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

HK EGFP-H2B šūnas | 300673**Freezing Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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