Product sheet

Клетки HK EGFP-H2B | 300673

Обща информация

Description	Клетъчната линия HK EGFP-H2B е генетично модифицирана клетъчна линия Hela Kyoto, използвана основно за изследване на динамиката на хроматина и ядрените процеси. Тази клетъчна линия експресира фюжън протеин, състоящ се от подобрен зелен флуоресцентен протеин (EGFP) и хистон H2B. Интегрирането на EGFP в H2B протеина позволява визуализиране на хроматина в реално време в живи клетки под флуоресцентна микроскопия, което осигурява ценни данни за пространствената и времевата организация на ядрото. Сливането на EGFP-H2B улеснява многобройни приложения в клетъчната биология, включително изучаването на прогресията на клетъчния цикъл, митозата и регулирането на генната експресия. Наблюдавайки моделите на флуоресценция, изследователите могат да идентифицират и анализират фазите на клетъчния цикъл, хромозомната сегрегация и структурните промени в ядрото. Тази клетъчна линия е получена от възрастни човешки клетки, което гарантира нейното значение за човешката биология, и се използва както за фундаментални биологични изследвания, така и за по-приложни фармацевтични проучвания. Освен това клетъчната линия HK EGFP-H2B служи като важен инструмент в изследванията на епигенетиката. Възможността за пряко наблюдение на поведението на хистоните помага за разбирането на епигенетичните механизми, които са в основата на генната експресия и заглушаването, както и на ефектите на различни епигенетични модификатори. Надеждното приложение на клетъчната линия при експерименти с живо изображение на клетки я прави незаменима за подробни изследвания, изискващи динамичен клетъчен анализ.
Organism	Човек
Tissue	Цервикс
Disease	Карцином
Synonyms	HeLa Kyoto H2B-EGFP, HeLa Kyoto H2B EGFP, HeLa-H2B-GFP

Характеристики

Age	30 години
Gender	Жена
Ethnicity	Афроамериканец
Morphology	Епителиални клетки с форма на мозаечно камъче
Growth properties	Монослой, прилепнал

Клетки HK EGFP-H2B | 300673

Регулаторни данни

Citation	HK EGFP-H2B (каталожен номер 300673 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D63
Depositor	Лабораторията на Елънбърг (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Тази линия HeLa Kyoto съдържа конструкция EGFP-H2B, която позволява визуализация в реално време на хроматиновата организация. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Protein expression	EGFP-H2B: Местоположение/ген: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR
Products	CMV Promotor, хистон H2B, неомицин, фосфотрансфераза

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Клетки HK EGFP-H2B | 300673

Seeding density	1 x 10^4 клетки/cm^2
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5 x 10^4 клетки/cm^2 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Клетки HK EGFP-H2B | 300673

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.
Flask Coating	Няма
Freezing Procedure	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.
HLA алели	**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