

HK EGFP-H2B-celler | 300673

Generel information

Description

HK EGFP-H2B-cellelinjen er en genetisk modificeret HeLa Kyoto-cellelinje, der primært anvendes til undersøgelse af kromatin-dynamik og nukleare processer. Denne cellelinje udtrykker et fusionsprotein bestående af Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP) og histon H2B. Integrationen af EGFP i H2B-proteinet giver mulighed for realtidsvisualisering af kromatin i levende celler under fluorescensmikroskopi, hvilket giver værdifuld indsigt i den rumlige og tidsmæssige organisering af kernen.

EGFP-H2B-fusionen muliggør mange anvendelser inden for cellebiologi, herunder undersøgelse af cellecyklusprogression, mitose og regulering af genekspression. Ved at observere fluorescensmønstrene kan forskere identificere og analysere faser i cellecyklussen, kromosomopdeling og strukturelle ændringer i kernen. Denne cellelinje stammer fra voksne menneskeceller, hvilket sikrer relevans for den menneskelige biologi, og den bruges både i biologisk grundforskning og i mere anvendte farmaceutiske undersøgelser.

Derudover fungerer HK EGFP-H2B-cellelinjen som et afgørende værktøj i epigenetisk forskning. Evnen til direkte at observere histonadfærd hjælper med at forstå de epigenetiske mekanismer, der ligger til grund for genekspression og -dæmpning, samt virkningerne af forskellige epigenetiske modifikatorer. Cellelinjens robuste anvendelse i live-celle billeddannelseseksperimenter gør den uundværlig til detaljerede undersøgelser, der kræver dynamisk cellulær analyse.

Organism Menneske

Tissue Livmoderhalsen

Disease Karcinom

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

Karakteristika

Age 30 år

Gender Kvinde

Ethnicity Afroamerikaner

Morphology Epitel-lignende celler med mosaikstenform

Growth properties Monolag, klæbende

Regulatoriske data

HK EGFP-H2B-celler | 300673

Citation	HK EGFP-H2B (Cytion katalognummer 300673)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D63
Depositor	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linje indeholder en EGFP-H2B-konstruktion, der muliggør visualisering af kromatinorganisation i realtid. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.

Biomolekylære data

Protein expression	EGFP-H2B: Placering/gen: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR
Products	CMV-promotor, histon H2B, neomycin, fosfotransferase

Håndtering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
Seeding density	1 x 10 ⁴ celler/cm ²
Fluid renewal	2 til 3 gange om ugen

HK EGFP-H2B-celler | 300673

Post-Thaw Recovery

Efter optøning skal cellerne udplades med 5×10^4 celler/cm², og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.

Freeze medium

Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryoviolet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

HK EGFP-H2B-celler | 300673

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturene daglige visuelle inspektioner.

HLA-alleler

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