

Κύτταρα HK EGFP-H2B | 300673

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά HK EGFP-H2B είναι μια γενετικά τροποποιημένη κυτταρική σειρά HeLa Kyoto που χρησιμοποιείται κυρίως για τη μελέτη της δυναμικής της χρωματίνης και των πυρηνικών διεργασιών. Αυτή η κυτταρική σειρά εκφράζει μια πρωτεΐνη σύντηξης που αποτελείται από ενισχυμένη πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (EGFP) και ιστόνη H2B. Η ενσωμάτωση της EGFP στην πρωτεΐνη H2B επιτρέπει την απεικόνιση σε πραγματικό χρόνο της χρωματίνης σε ζωντανά κύτταρα με μικροσκοπία φθορισμού, παρέχοντας πολύτιμες πληροφορίες για τη χωρική και χρονική οργάνωση του πυρήνα.

Η σύντηξη EGFP-H2B διευκολύνει πολυάριθμες εφαρμογές στην κυτταρική βιολογία, συμπεριλαμβανομένης της μελέτης της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου, της μίτωσης και της ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης. Παρατηρώντας τα μοτίβα φθορισμού, οι ερευνητές μπορούν να προσδιορίσουν και να αναλύσουν τις φάσεις του κυτταρικού κύκλου, τον χρωμοσωμικό διαχωρισμό και τις δομικές αλλαγές εντός του πυρήνα. Αυτή η κυτταρική σειρά προέρχεται από ενήλικα ανθρώπινα κύτταρα, εξασφαλίζοντας τη συνάφεια με την ανθρώπινη βιολογία, και χρησιμοποιείται τόσο στη βασική βιολογική έρευνα όσο και σε πιο εφαρμοσμένες φαρμακευτικές μελέτες.

Επιπλέον, η κυτταρική σειρά HK EGFP-H2B χρησιμεύει ως κρίσιμο εργαλείο στην έρευνα επιγενετικής. Η δυνατότητα άμεσης παρατήρησης της συμπεριφοράς των ιστονών βοηθά στην κατανόηση των επιγενετικών μηχανισμών που διέπουν την έκφραση και την αποσιώπηση των γονιδίων, καθώς και των επιδράσεων των διαφόρων επιγενετικών τροποποιητών. Η ισχυρή εφαρμογή της κυτταρικής σειράς σε πειράματα απεικόνισης ζωντανών κυττάρων την καθιστά απαραίτητη για λεπτομερείς μελέτες που απαιτούν δυναμική κυτταρική ανάλυση.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Τράχηλος μήτρας

Disease Καρκίνωμα

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

Χαρακτηριστικά

Age 30 χρόνια

Gender Γυναίκα

Ethnicity Αφροαμερικανός

Morphology Επιθηλιακά κύτταρα με ψηφιδωτό σχήμα πέτρας

Growth properties Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Κύτταρα HK EGFP-H2B | 300673

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HK EGFP-H2B (αριθμός καταλόγου Cytion 300673)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D63
Depositor	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η σειρά HeLa Kyoto περιέχει ένα κατασκεύασμα EGFP-H2B που επιτρέπει την οπτικοποίηση της οργάνωσης της χρωματίνης σε πραγματικό χρόνο. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	EGFP-H2B: Θέση/γονίδιο: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR
Products	CMV Promotor, ιστόνη H2B, νεομυκίνη, φωσφοτρανσφεράση

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM πυρροβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Κύτταρα HK EGFP-H2B | 300673**Seeding density** 1 x 10⁴ κύτταρα/cm²**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα**Post-Thaw Recovery** Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5 x 10⁴ κύτταρα/cm² και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.**Freeze medium** Ως μέσο κρυσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυσυντήρηση.**Thawing and Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Κύτταρα HK EGFP-H2B | 300673

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating Κανένα

Freezing Procedure Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

HLA αλληλόμορφα

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