

Cellules HK EGFP-H2B | 300673

Informations générales

Description

La lignée cellulaire HK EGFP-H2B est une lignée cellulaire HeLa Kyoto génétiquement modifiée utilisée principalement pour l'étude de la dynamique de la chromatine et des processus nucléaires. Cette lignée cellulaire exprime une protéine de fusion composée de la protéine fluorescente verte améliorée (EGFP) et de l'histone H2B. L'intégration de l'EGFP dans la protéine H2B permet la visualisation en temps réel de la chromatine dans les cellules vivantes par microscopie à fluorescence, ce qui fournit des informations précieuses sur l'organisation spatiale et temporelle du noyau.

La fusion EGFP-H2B facilite de nombreuses applications en biologie cellulaire, notamment l'étude de la progression du cycle cellulaire, de la mitose et de la régulation de l'expression génétique. En observant les motifs de fluorescence, les chercheurs peuvent identifier et analyser les phases du cycle cellulaire, la ségrégation chromosomique et les changements structuraux au sein du noyau. Cette lignée cellulaire est dérivée de cellules humaines adultes, ce qui garantit sa pertinence pour la biologie humaine. Elle est utilisée à la fois dans la recherche biologique fondamentale et dans des études pharmaceutiques plus appliquées.

En outre, la lignée cellulaire HK EGFP-H2B est un outil essentiel pour la recherche en épigénétique. La possibilité d'observer directement les comportements des histones aide à comprendre les mécanismes épigénétiques qui sous-tendent l'expression et l'extinction des gènes, ainsi que les effets de divers modificateurs épigénétiques. L'application robuste de la lignée cellulaire dans les expériences d'imagerie de cellules vivantes la rend indispensable pour les études détaillées nécessitant une analyse cellulaire dynamique.

Organism Humain

Tissue Col de l'utérus

Disease Carcinome

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

Caractéristiques

Age 30 ans

Gender Femme

Ethnicity Afro-américain

Morphology Cellules de type épithélial avec une forme de pierre en mosaïque

Growth properties Monocouche, adhérente

Cellules HK EGFP-H2B | 300673

Données réglementaires

Citation	HK EGFP-H2B (numéro de catalogue 300673 de Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D63
Depositor	Le laboratoire Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1 : cette lignée HeLa Kyoto contient une construction EGFP-H2B permettant la visualisation en temps réel de l'organisation de la chromatine. Cette classification s'applique uniquement en Allemagne et peut différer ailleurs.

Données biomoléculaires

Protein expression	EGFP-H2B : Localisation/Gène : 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR
Products	Promoteur CMV, Histone H2B, Néomycine, Phosphotransférase

Manipulation

Culture Medium	DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO ₃ , w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Cellules HK EGFP-H2B | 300673

Seeding density 1 x 10⁴ cellules/cm²

Fluid renewal 2 à 3 fois par semaine

Post-Thaw Recovery Après décongélation, ensemercer les cellules à raison de 5 x 10⁴ cellules/cm² et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Cellules HK EGFP-H2B | 300673

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2} atmosphère humidifiée.

Flask Coating Aucun

Freezing Procedure Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Allèles HLA

- 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