

## Cellule HK EGFP-H2B | 300673

## Informazioni generali

## Description

La linea cellulare HK EGFP-H2B è una linea cellulare HeLa Kyoto geneticamente modificata utilizzata principalmente per lo studio della dinamica della cromatina e dei processi nucleari. Questa linea cellulare esprime una proteina di fusione costituita da Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP) e dall'istone H2B. L'integrazione di EGFP nella proteina H2B consente di visualizzare in tempo reale la cromatina nelle cellule vive con la microscopia a fluorescenza, fornendo preziose informazioni sull'organizzazione spaziale e temporale del nucleo.

La fusione EGFP-H2B facilita numerose applicazioni in biologia cellulare, tra cui lo studio della progressione del ciclo cellulare, della mitosi e della regolazione dell'espressione genica. Osservando i modelli di fluorescenza, i ricercatori possono identificare e analizzare le fasi del ciclo cellulare, la segregazione cromosomica e i cambiamenti strutturali all'interno del nucleo. Questa linea cellulare è derivata da cellule umane adulte, il che garantisce la rilevanza per la biologia umana, ed è utilizzata sia nella ricerca biologica di base che in studi farmaceutici più applicati.

Inoltre, la linea cellulare HK EGFP-H2B è uno strumento fondamentale per la ricerca epigenetica. La capacità di osservare direttamente i comportamenti degli istoni aiuta a comprendere i meccanismi epigenetici alla base dell'espressione e del silenziamento dei geni, nonché gli effetti di vari modificatori epigenetici. La robusta applicazione della linea cellulare in esperimenti di imaging a cellule vive la rende indispensabile per studi dettagliati che richiedono un'analisi cellulare dinamica.

**Organism** Umano

**Tissue** Cervice

**Disease** Carcinoma

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

## Caratteristiche

**Age** 30 anni

**Gender** Donna

**Ethnicity** Afroamericano

**Morphology** Cellule simili a quelle epiteliali con forma di pietra a mosaico

**Growth properties** Monostrato, aderente

## Cellule HK EGFP-H2B | 300673

## Dati normativi

<b>Citation</b>	HK EGFP-H2B (numero di catalogo Cytion 300673)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1D63
<b>Depositor</b>	Il laboratorio Ellenberg (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: questa linea HeLa Kyoto contiene un costrutto EGFP-H2B che consente la visualizzazione in tempo reale dell'organizzazione della cromatina. Questa classificazione è valida solo in Germania e può differire in altri paesi.

## Dati biomolecolari

<b>Protein expression</b>	EGFP-H2B: Posizione/Gene: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR
<b>Products</b>	Promotore CMV, Istone H2B, Neomicina, Fosfotrasferasi

## Manipolazione

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)
<b>Supplements</b>	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
<b>Seeding density</b>	1 x 10 <sup>4</sup> cellule/cm <sup>2</sup>

## Cellule HK EGFP-H2B | 300673

**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana

**Post-Thaw Recovery** Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a  $5 \times 10^4$  cellule/cm<sup>2</sup> e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.

**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

### Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, atmosfera umidificata.

**Flask Coating** Nessuno

## Cellule HK EGFP-H2B | 300673

### Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

### Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

### Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

## Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

### Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

### Alleli 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