

HK EGFP-H2B-cellen | 300673

Algemene informatie

Description

De HK EGFP-H2B cellijn is een genetisch gemodificeerde HeLa Kyoto cellijn die voornamelijk gebruikt wordt voor het bestuderen van chromatine dynamica en nucleaire processen. Deze cellijn brengt een fusie-eiwit tot expressie dat bestaat uit Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP) en histon H2B. De integratie van EGFP in het H2B eiwit maakt de real-time visualisatie van chromatine in levende cellen onder fluorescentiemicroscopie mogelijk, wat waardevolle inzichten geeft in de ruimtelijke en temporele organisatie van de celkern.

De EGFP-H2B fusie vergemakkelijkt talrijke toepassingen in de celbiologie, waaronder het bestuderen van celcyclusprogressie, mitose en genexpressieregulatie. Door de fluorescentiepatronen te observeren, kunnen onderzoekers fasen van de celcyclus, chromosoomsegregatie en structurele veranderingen in de celkern identificeren en analyseren. Deze cellijn is afgeleid van volwassen menselijke cellen, wat zorgt voor relevantie voor de menselijke biologie, en wordt gebruikt in zowel fundamenteel biologisch onderzoek als meer toegepaste farmaceutische studies.

Daarnaast dient de HK EGFP-H2B cellijn als een cruciaal instrument in epigenetisch onderzoek. De mogelijkheid om histongedrag direct te observeren helpt bij het begrijpen van de epigenetische mechanismen die ten grondslag liggen aan genexpressie en het tot zwijgen brengen van genen, evenals de effecten van verschillende epigenetische modificatoren. De robuuste toepassing van de cellijn in live-cell imaging experimenten maakt hem onmisbaar voor gedetailleerde studies die een dynamische cellulaire analyse vereisen.

Organism Mens

Tissue Baarmoederhals

Disease Carcinoom

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

Kenmerken

Age 30 jaar

Gender Vrouw

Ethnicity Afro-Amerikaan

Morphology Epitheelachtige cellen met mozaïeksteenvorm

Growth properties Monolaag, adherent

Regelgevende gegevens

HK EGFP-H2B-cellen | 300673

Citation	HK EGFP-H2B (Cytion catalogusnummer 300673)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D63
Depositor	Het Ellenberg Lab (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Deze HeLa Kyoto-lijn bevat een EGFP-H2B-constructie waarmee de chromatineorganisatie in realtime kan worden gevisualiseerd. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Protein expression	EGFP-H2B: Locatie/gen: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR
Products	CMV Promotor, Histon H2B, Neomycine, Fosfotransferase

Omgaan met

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 Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
Seeding density	1 x 10 ⁴ cellen/cm ²
Fluid renewal	2 tot 3 keer per week

HK EGFP-H2B-cellen | 300673

Post-Thaw Recovery

Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van 5×10^4 cellen/cm² en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

HK EGFP-H2B-cellen | 300673

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

HLA-allelen

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