Product sheet

HK EGFP-H2B-celler | 300673

Generell informasjon

Description	HK EGFP-H2B-cellelinjen er en genmodifisert Hela Kyoto-cellelinje som primært brukes til studier av kromatindynamikk og kjerneprosesser. Denne cellelinjen uttrykker et fusjonsprotein bestående av Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP) og histon H2B. Integrasjonen av EGFP i H2B-proteinet gjør det mulig å visualisere kromatin i levende celler i sanntid under fluorescensmikroskopi, noe som gir verdifull innsikt i den romlige og tidsmessige organiseringen av kjernen. EGFP-H2B-fusjonen muliggjør en rekke anvendelser innen cellebiologi, blant annet studier av cellesyklusprogresjon, mitose og regulering av genuttrykk. Ved å observere fluorescensmønstrene kan forskere identifisere og analysere faser i cellesyklusen, kromosomsegregering og strukturelle endringer i kjernen. Denne cellelinjen er avledet fra voksne humane celler, noe som sikrer relevansen for humanbiologi, og den brukes både i biologisk grunnforskning og mer anvendte farmasøytiske studier. I tillegg er HK EGFP-H2B-cellelinjen et viktig verktøy i epigenetisk forskning. Muligheten til å observere histonatferd direkte bidrar til å forstå de epigenetiske mekanismene som ligger til grunn for genuttrykk og avstenging, samt effekten av ulike epigenetiske modifikatorer. Cellelinjens robuste anvendelse i live-celleavbildningseksperimenter gjør den uunnværlig for detaljerte studier som krever dynamisk celleanalyse.
Organism	Menneskelig
Tissue	Livmorhalsen
Disease	Karsinom
Synonyms	HeLa Kyoto H2B-EGFP, HeLa Kyoto H2B EGFP, HeLa-H2B-GFP

Kjennetegn

Age	30 år
Gender	Kvinne
Ethnicity	Afroamerikaner
Morphology	Epitel-lignende celler med mosaikksteinform
Growth properties	Monolag, vedheftende

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-linjen inneholder en EGFP-H2B-konstruksjon som muliggjør visualisering av kromatinorganiseringen i sanntid. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan være annerledes andre steder.

Biomolekylære data

Protein expression	EGFP-H2B: Beliggenhet/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, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO3, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Seeding density	1 x 10^4 celler/cm^2
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke

HK EGFP-H2B-celler | 300673

Post-Thaw Recovery	Etter tining, plasser cellene på 5 x 10^4 celler/cm^2 og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.
Thawing and Culturing Cells	1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport. 2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig. 3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen. 4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den. 5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig. 6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig. 7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst. 8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, befuktet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

HK EGFP-H2B-celler | 300673

Shipping Conditions	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Storage Conditions	For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility	Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma. For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.
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