

Komórki HK EGFP-H2B | 300673**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa HK EGFP-H2B to genetycznie zmodyfikowana linia komórkowa HeLa Kyoto wykorzystywana głównie do badania dynamiki chromatyny i procesów jądrowych. Ta linia komórkowa wyraża białko fuzyjne składające się z białka EGFP (Enhanced Green Fluorescent Protein) i histonu H2B. Integracja EGFP z białkiem H2B pozwala na wizualizację chromatyny w czasie rzeczywistym w żywych komórkach pod mikroskopem fluorescencyjnym, zapewniając cenny wgląd w przestrzenną i czasową organizację jądra.

Fuzja EGFP-H2B ułatwia liczne zastosowania w biologii komórki, w tym badanie progresji cyklu komórkowego, mitozy i regulacji ekspresji genów. Obserwując wzorce fluorescencji, naukowcy mogą identyfikować i analizować fazy cyklu komórkowego, segregację chromosomów i zmiany strukturalne w jądrze. Ta linia komórkowa pochodzi z dorosłych komórek ludzkich, zapewniając znaczenie dla biologii człowieka i jest wykorzystywana zarówno w podstawowych badaniach biologicznych, jak i bardziej stosowanych badaniach farmaceutycznych.

Dodatkowo, linia komórkowa HK EGFP-H2B służy jako kluczowe narzędzie w badaniach nad epigenetyką. Możliwość bezpośredniej obserwacji zachowań histonów pomaga w zrozumieniu mechanizmów epigenetycznych, które leżą u podstaw ekspresji i wyciszenia genów, a także skutków różnych modyfikatorów epigenetycznych. Solidne zastosowanie linii komórkowej w eksperymentach obrazowania żywych komórek sprawia, że jest ona niezbędna do szczegółowych badań wymagających dynamicznej analizy komórkowej.

Organism Człowiek**Tissue** Szyjka macicy**Disease** Rak**Synonyms** HeLa Kyoto H2B-EGFP, HeLa Kyoto H2B EGFP, HeLa-H2B-GFP**Charakterystyka****Age** 30 lat**Gender** Kobieta**Ethnicity** Afroamerykanin**Morphology** Komórki podobne do nabłonka o mozaikowym kształcie kamienia**Growth properties** Monowarstwa, przylegająca**Dane regulacyjne**

Komórki HK EGFP-H2B | 300673

Citation	HK EGFP-H2B (numer katalogowy Cytion 300673)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D63
Depositor	Laboratorium Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Linia HeLa Kyoto zawiera konstrukt EGFP-H2B umożliwiający wizualizację organizacji chromatinu w czasie rzeczywistym. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może różnić się w innych krajach.

Dane biomolekularne

Protein expression	EGFP-H2B: Lokalizacja/gen: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR
Products	Promotor CMV, histon H2B, neomycyna, fosfotransferaza

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Seeding density	1 x 10 ⁴ komórek/cm ²
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu

Komórki HK EGFP-H2B | 300673**Post-Thaw Recovery**

Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki HK EGFP-H2B | 300673

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Allele 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