

**Células HK EGFP-H2B | 300673****Informações gerais****Description**

A linha celular HK EGFP-H2B é uma linha celular HeLa Kyoto geneticamente modificada, utilizada principalmente para o estudo da dinâmica da cromatina e dos processos nucleares. Esta linha celular exprime uma proteína de fusão constituída pela proteína verde fluorescente melhorada (EGFP) e pela histona H2B. A integração da EGFP na proteína H2B permite a visualização em tempo real da cromatina em células vivas sob microscopia de fluorescência, fornecendo informações valiosas sobre a organização espacial e temporal do núcleo.

A fusão EGFP-H2B facilita numerosas aplicações em biologia celular, incluindo o estudo da progressão do ciclo celular, mitose e regulação da expressão genética. Ao observar os padrões de fluorescência, os investigadores podem identificar e analisar as fases do ciclo celular, a segregação cromossômica e as alterações estruturais no núcleo. Esta linha celular é derivada de células humanas adultas, garantindo a relevância para a biologia humana, e é utilizada tanto na investigação biológica básica como em estudos farmacêuticos mais aplicados.

Além disso, a linha de células HK EGFP-H2B serve como uma ferramenta crucial na investigação epigenética. A capacidade de observar diretamente os comportamentos das histonas ajuda a compreender os mecanismos epigenéticos subjacentes à expressão e silenciamento dos genes, bem como os efeitos de vários modificadores epigenéticos. A aplicação robusta da linha celular em experiências de imagiologia de células vivas torna-a indispensável para estudos pormenorizados que exijam uma análise celular dinâmica.

**Organism** Humano**Tissue** Colo do útero**Disease** Carcinoma**Synonyms** HeLa Kyoto H2B-EGFP, HeLa Kyoto H2B EGFP, HeLa-H2B-GFP**Caraterísticas****Age** 30 anos**Gender** Feminino**Ethnicity** Afro-americano**Morphology** Células de tipo epitelial com forma de pedra em mosaico**Growth properties** Monocamada, aderente**Dados regulamentares**

**Células HK EGFP-H2B | 300673**

<b>Citation</b>	HK EGFP-H2B (número de catálogo Cytion 300673)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1D63
<b>Depositor</b>	O Laboratório Ellenberg (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Esta linha HeLa Kyoto contém uma construção EGFP-H2B que permite a visualização em tempo real da organização da cromatina. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

**Dados biomoleculares**

<b>Protein expression</b>	EGFP-H2B: Localização/Gene: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR
<b>Products</b>	Promotor do CMV, Histona H2B, Neomicina, Fosfotransferase

**Manuseamento**

<b>Culture Medium</b>	DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO <sub>3</sub> , com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Completar o meio com 10% de FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
<b>Seeding density</b>	1 x 10 <sup>4</sup> células/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 a 3 vezes por semana

## Células HK EGFP-H2B | 300673

### Post-Thaw Recovery

Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de  $5 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

### Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

## Células HK EGFP-H2B | 300673

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

### Alelos 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