

Celule HK EGFP-H2B | 300673

Informații generale

Description

Linia celulară HK EGFP-H2B este o linie celulară HeLa Kyoto modificată genetic, utilizată în principal pentru studiul dinamicii cromatinei și al proceselor nucleare. Această linie celulară exprimă o proteină de fuziune formată din proteina fluorescentă verde îmbunătățită (EGFP) și histona H2B. Integrarea EGFP în proteina H2B permite vizualizarea în timp real a cromatinei în celulele vii prin microscopie cu fluorescență, oferind informații valoroase privind organizarea spațială și temporală a nucleului.

Fuziunea EGFP-H2B facilitează numeroase aplicații în biologia celulară, inclusiv studiul progresiei ciclului celular, mitozei și reglării expresiei genice. Prin observarea modelelor de fluorescență, cercetătorii pot identifica și analiza fazele ciclului celular, segregarea cromozomială și modificările structurale din cadrul nucleului. Această linie celulară este derivată din celule umane adulte, asigurând relevanța pentru biologia umană, și este utilizată atât în cercetarea biologică de bază, cât și în studii farmaceutice mai aplicate.

În plus, linia celulară HK EGFP-H2B servește drept instrument esențial în cercetarea epigenetică. Capacitatea de a observa direct comportamentul histonelor ajută la înțelegerea mecanismelor epigenetice care stau la baza exprimării și reducerii la tăcere a genelor, precum și a efectelor diferiților modificatori epigenetici. Aplicarea robustă a liniei celulare în experimentele de imagistică cu celule vii o face indispensabilă pentru studiile detaliate care necesită o analiză celulară dinamică.

Organism Om

Tissue Cervix

Disease Carcinom

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

Caracteristici

Age 30 de ani

Gender Femei

Ethnicity African american

Morphology Celule de tip epitelial cu formă de piatră mozaicată

Growth properties Monostrat, aderent

Date de reglementare

Celule HK EGFP-H2B | 300673

Citation	HK EGFP-H2B (număr de catalog Cytion 300673)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D63
Depositor	Laboratorul Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Această linie HeLa Kyoto conține o construcție EGFP-H2B care permite vizualizarea în timp real a organizării cromatinei. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.

Date biomoleculare

Protein expression	EGFP-H2B: Locație/Gene: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR
Products	CMV Promotor, Histona H2B, Neomicină, Fosfotransferază

Manipulare

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
Seeding density	1 x 10 ⁴ celule/cm ²
Fluid renewal	de 2 până la 3 ori pe săptămână

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

După decongelare, plasați celulele la 5×10^4 celule/cm² și lăsați-le să se recupereze după procesul de congelare și să adere timp de cel puțin 24 de ore.

Freeze medium

Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Celule HK EGFP-H2B | 300673

Freezing Procedure

Liniiile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniiile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Alele 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