

HK EGFP-H2B-celler | 300673

Allmän information

Description

HK EGFP-H2B-cellinjen är en genetiskt modifierad HeLa Kyoto-cellinje som främst används för studier av kromatindynamik och nukleära processer. Denna cellinje uttrycker ett fusionsprotein som består av Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP) och histon H2B. Integrationen av EGFP i H2B-proteinet möjliggör realtidsvisualisering av kromatin i levande celler under fluorescensmikroskopi, vilket ger värdefulla insikter i den rumsliga och tidsmässiga organisationen av kärnan.

EGFP-H2B-fusionen underlättar många tillämpningar inom cellbiologi, bland annat studier av cellcykelförlopp, mitos och reglering av genuttryck. Genom att observera fluorescensmönstren kan forskare identifiera och analysera faser i cellcykeln, kromosomsegregering och strukturella förändringar i cellkärnan. Denna cellinje härrör från celler från vuxna människor, vilket säkerställer relevansen för humanbiologi, och används både inom biologisk grundforskning och mer tillämpade farmaceutiska studier.

Dessutom fungerar HK EGFP-H2B-cellinjen som ett viktigt verktyg inom epigenetisk forskning. Möjligheten att direkt observera histonernas beteende bidrar till förståelsen av de epigenetiska mekanismer som ligger bakom genuttryck och avstängning av gener, samt effekterna av olika epigenetiska modifierare. Cellinjens robusta tillämpning i live-cell imaging-experiment gör den outhärlig för detaljerade studier som kräver dynamisk cellulär analys.

Organism Människan

Tissue Cervix

Disease Carcinom

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

Egenskaper

Age 30 år

Gender Kvinna

Ethnicity Afroamerikan

Morphology Epitelliknande celler med mosaikstensform

Growth properties Monolager, vidhäftande

Lagstadgade uppgifter

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: Denna HeLa Kyoto-linje innehåller en EGFP-H2B-konstruktion som möjliggör visualisering av kromatinorganisation i realtid. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt i andra länder.

Biomolekylära data

Protein expression	EGFP-H2B: Plats/Gen: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR
Products	CMV Promotor, Histon H2B, Neomycin, Fosfotransferas

Hantering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.
Seeding density	1 x 10 ⁴ celler/cm ²
Fluid renewal	2 till 3 gånger per vecka

HK EGFP-H2B-celler | 300673

Post-Thaw Recovery

Efter upptining, plattlägg cellerna med 5×10^4 celler/cm² och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 24 timmar.

Freeze medium

Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfrys vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

HK EGFP-H2B-celler | 300673

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma kontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasma diagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

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