Product sheet

HK celice EGFP-H2B | 300673

Splošne informacije

Description	Celična linija HK EGFP-H2B je genetsko spremenjena celična linija Hela Kyoto, ki se uporablja predvsem za preučevanje dinamike kromatina in jedrnih procesov. Ta celična linija izraža fuzijski protein, sestavljen iz izboljšanega zelenega fluorescenčnega proteina (EGFP) in histona H2B. Integracija EGFP v beljakovino H2B omogoča vizualizacijo kromatina v živih celicah v realnem času pod fluorescenčnim mikroskopom, kar omogoča dragocen vpogled v prostorsko in časovno organizacijo jedra. Fuzija EGFP-H2B omogoča številne aplikacije v celični biologiji, vključno s preučevanjem napredovanja celičnega cikla, mitoze in regulacije izražanja genov. Z opazovanjem vzorcev fluorescence lahko raziskovalci ugotavljajo in analizirajo faze celičnega cikla, kromosomsko segregacijo in strukturne spremembe v jedru. Ta celična linija je pridobljena iz odraslih človeških celic, kar zagotavlja, da je pomembna za človeško biologijo, in se uporablja tako v osnovnih bioloških raziskavah kot v bolj uporabnih farmacevtskih študijah. Poleg tega je celična linija HK EGFP-H2B ključno orodje pri raziskavah epigenetike. Možnost neposrednega opazovanja obnašanja histonov pomaga pri razumevanju epigenetskih mehanizmov, ki so osnova za izražanje in utišanje genov, ter učinkov različnih epigenetskih modifikatorjev. Celična linija je zaradi zanesljive uporabe v poskusih slikanja živih celic nepogrešljiva za podrobne študije, ki zahtevajo dinamično celično analizo.
Organism	Človek
Tissue	Maternični vrat
Disease	Karcinom
Synonyms	HeLa Kyoto H2B-EGFP, HeLa Kyoto H2B EGFP, HeLa-H2B-GFP

Značilnosti

Age	30 let
Gender	Ženske
Ethnicity	Afroameričan
Morphology	Epitelnim celicam podobne celice z obliko mozaičnih kamenčkov
Growth properties	Enoslojni, adherentni

Regulativni podatki

Product sheet

HK celice EGFP-H2B | 300673

Citation	HK EGFP-H2B (kataloška številka Cytion 300673)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D63
Depositor	Laboratorij Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Ta linija HeLa Kyoto vsebuje konstrukt EGFP-H2B, ki omogoča vizualizacijo organizacije kromatina v realnem času. Ta klasifikacija velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.

Biomolekularni podatki

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

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
Seeding density	1 x 10^4 celic/cm^2
Fluid renewal	2 do 3-krat na teden

HK celice EGFP-H2B | 300673

Post-Thaw Recovery	Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5 x 10^4 cel^{ic}/cm^2 in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.
Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavrzite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, vlažno ozračje.
Flask Coating	Nič

HK celice EGFP-H2B | 300673

Freezing Procedure	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.
Shipping Conditions	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.
Storage Conditions	Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility	Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence. Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.
Aleli 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