

Клітини НК EGFP-H2B | 300673

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія НК EGFP-H2B - це генетично модифікована лінія клітин HeLa Kyoto, яка використовується переважно для вивчення динаміки хроматину та ядерних процесів. Ця лінія експресує злитий білок, що складається з посиленого зеленого флуоресцентного білка (EGFP) та гістону H2B. Інтеграція EGFP у білок H2B дозволяє візуалізувати хроматин у живих клітинах у режимі реального часу за допомогою флуоресцентної мікроскопії, надаючи цінну інформацію про просторову та часову організацію ядра.

Злиття EGFP-H2B полегшує численні застосування в клітинній біології, включаючи вивчення прогресії клітинного циклу, мітозу та регуляції експресії генів. Спостерігаючи за флуоресценцією, дослідники можуть ідентифікувати та аналізувати фази клітинного циклу, хромосому сегрегацію та структурні зміни в ядрі. Ця клітинна лінія отримана з клітин дорослої людини, що забезпечує відповідність біології людини, і використовується як у фундаментальних біологічних дослідженнях, так і в більш прикладних фармацевтичних дослідженнях.

Крім того, клітинні лінії НК EGFP-H2B слугують важливим інструментом в епігенетичних дослідженнях. Можливість безпосереднього спостереження за поведінкою гістонів допомагає зрозуміти епігенетичні механізми, що лежать в основі експресії та вимкнення генів, а також вплив різних епігенетичних модифікаторів. Надійне застосування клітинної лінії в експериментах з візуалізації живих клітин робить її незамінною для детальних досліджень, що вимагають динамічного клітинного аналізу.

Organism Людина

Tissue Шийка матки

Disease Карцинома

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

Характеристики

Age 30 років

Gender Жінка

Ethnicity Афроамериканець

Morphology Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю

Growth properties Одношаровий, адгезійний

Нормативні дані

Клітини НК EGFP-H2B | 300673

| | |
|-----------------------------|---|
| Citation | НК EGFP-H2B (номер за каталогом Cytion 300673) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 9606 |
| CellosaurusAccession | CVCL_1D63 |
| Depositor | Лабораторія Елленберга (EMBL) |
| GMO Status | GMO-S1: Ця лінія HeLa Kyoto містить конструкцію EGFP-H2B, що дозволяє візуалізувати організацію хроматину в режимі реального часу. Ця класифікація застосовується тільки в Німеччині і може відрізнятись в інших країнах. |

Біомолекулярні дані

| | |
|---------------------------|--|
| Protein expression | EGFP-H2B: Розташування/ген: 1..589 / Pcmv, 613.1329 / EGFP, 1387.1764 / H2B, 3001.3795 / KanR/NeoR |
| Products | Промотор ЦМВ, гістон H2B, неоміцин, фосфотрансфераза |

Обробка

| | |
|-----------------------------|--|
| Culture Medium | DMEM, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO ₃ , w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a) |
| Supplements | Додайте до середовища 10% FBS |
| Dissociation Reagent | Аккутаза |
| Subculturing | Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище. |
| Seeding density | 1×10^4 клітин/см ² |
| Fluid renewal | 2-3 рази на тиждень |

Клітини НК EGFP-H2B | 300673

Post-Thaw Recovery

Після розморожування висійте клітини з щільністю 5×10^4 клітин/ cm^2 і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.

Freeze medium

Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Hi

Клітини НК EGFP-H2B | 300673

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

HLA алелі

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