

Cellules HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921**Informations générales****Description**

La lignée cellulaire HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry est un modèle cellulaire dérivé de HeLa Kyoto génétiquement modifié, développé pour faciliter les études avancées sur la dynamique nucléaire et l'organisation de la chromatine dans les cellules vivantes. Cette lignée cellulaire exprime deux protéines de fusion : EGFP (protéine fluorescente verte améliorée) fusionnée avec la Lamin A, et mCherry (protéine fluorescente rouge) fusionnée avec l'Histone H2B. La fusion EGFP-Lamin A met en évidence l'enveloppe nucléaire et permet de visualiser les changements de l'architecture nucléaire au cours de la progression du cycle cellulaire ou dans diverses conditions expérimentales. La protéine de fusion H2B-mCherry se lie à l'ADN et produit une fluorescence rouge vive qui marque la chromatine, ce qui permet d'observer en temps réel les processus chromosomiques au cours de la mitose et de l'interphase.

Ces cellules sont précieuses pour les applications d'imagerie en temps réel, notamment les études sur l'intégrité nucléaire, la réplication de l'ADN et le vieillissement cellulaire, ainsi que pour la recherche sur les maladies où l'architecture nucléaire est perturbée, telles que le cancer et les laminopathies. La fluorescence bicolore de cette lignée cellulaire permet de visualiser simultanément l'enveloppe nucléaire et la chromatine, ce qui facilite la compréhension des interactions nucléaires-cytoplasmiques et de l'organisation spatio-temporelle de la chromatine. Ces capacités en font un outil essentiel pour la recherche en biologie moléculaire et en biophysique cellulaire, permettant de mieux comprendre les mécanismes de régulation de l'expression génétique, l'organisation nucléaire et le cycle cellulaire.

Organism Humain**Tissue** Col de l'utérus**Disease** Carcinome**Synonyms** HeLa Kyoto EGFP-LaminA et H2B-mCherry**Caractéristiques****Age** 30 ans**Gender** Femme**Ethnicity** Afro-américain**Morphology** Cellules de type épithélial avec une forme de pierre en mosaïque**Growth properties** Monocouche, adhérente**Données réglementaires**

Cellules HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921

Citation	HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry (numéro de catalogue Cytion 300921)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D62
Depositor	Le laboratoire Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1 : cette lignée HeLa Kyoto contient des constructions EGFP-Lamin A et H2B-mCherry permettant l'imagerie bicolore de la lamina nucléaire et de la chromatine. Cette classification s'applique uniquement en Allemagne et peut différer ailleurs.

Données biomoléculaires

Protein expression	EGFP-LaminA/H2B-mCherry
Products	Histone H2B

Manipulation

Culture Medium	DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO ₃ , w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Split ratio	Un rapport de 1:3 est recommandé
Seeding density	1 x 10 ⁴ cellules/cm ²

Cellules HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921

Fluid renewal 2 à 3 fois par semaine

Post-Thaw Recovery Après décongélation, ensemercer les cellules à raison de 5×10^4 cellules/cm² et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, atmosphère humidifiée.

Cellules HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921

Flask Coating Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Allèles 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