

Cellules HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

Informations générales

Description

La lignée cellulaire HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry est un modèle in vitro dérivé de HeLa Kyoto conçu pour la visualisation en temps réel de la dynamique de la chromatine et de l'architecture nucléaire dans les cellules vivantes. Cette lignée cellulaire exprime deux fusions de protéines fluorescentes : EGFP (enhanced green fluorescent protein) fusionnée avec la Lamin B1, et mCherry (une protéine fluorescente rouge) fusionnée avec l'histone H2B. La fusion de l'EGFP avec la Lamin B1 permet d'observer l'enveloppe nucléaire et la lamina nucléaire, des structures essentielles au maintien de l'intégrité et de la fonctionnalité du noyau. Les protéines Lamin sont des protéines de filaments intermédiaires de type V qui forment un réseau sous-jacent à la membrane nucléaire interne, jouant un rôle clé dans la stabilité nucléaire, l'organisation de la chromatine et la régulation des gènes.

D'autre part, l'histone H2B marquée mCherry permet de visualiser la chromatine à l'intérieur du noyau. Les histones sont des composants fondamentaux du nucléosome, impliquées dans l'organisation de l'ADN en chromatine, ce qui les rend cruciales pour la réplication, la réparation et la transcription de l'ADN. L'étiquette mCherry sur H2B produit une fluorescence rouge vive qui contraste avec la fluorescence verte de l'EGFP, ce qui permet une double imagerie simultanée de la structure nucléaire et de la chromatine dans les expériences sur cellules vivantes. Cette lignée cellulaire est couramment utilisée dans les études portant sur la mécanique nucléaire, la mitose et la stabilité du génome, offrant une vue dynamique des processus cellulaires qui sont autrement difficiles à observer en temps réel.

Organism Humain

Tissue Col de l'utérus

Disease Carcinome

Metastatic site Localisation de la tumeur primaire (col de l'utérus)

Applications Lamina nucléaire et organisation de la chromatine ; dynamique de la lamine B1 ; imagerie de la chromatine H2B ; fluorescence bicolore sur cellules vivantes ; mécanique nucléaire ; mitose ; stabilité du génome ; biologie de l'enveloppe nucléaire

Synonyms HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 et H2B-mCherry

Caractéristiques

Age 30 ans

Gender Femme

Ethnicity Afro-américain

Cellules HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919**Morphology** Cellules de type épithélial avec une forme de pierre en mosaïque**Cell type** Cellules épithéliales**Growth properties** Monocouche, adhérente**Données réglementaires****Citation** HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry (numéro de catalogue Cytion 300919)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR41**Depositor** Le laboratoire Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1 : cette lignée HeLa Kyoto contient des constructions EGFP-Lamin B1 et H2B-mCherry pour l'imagerie de l'enveloppe nucléaire et de l'organisation de la chromatine. Cette classification s'applique uniquement en Allemagne et peut différer ailleurs.**Données biomoléculaires****Protein expression** EGFP-LaminB1/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 NaHCO₃, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Cellules HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

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 1×10^4 cellules/cm²

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.

Cellules HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

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 $300 \times g$ 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% CO_2 , atmosphère humidifiée.

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.

Cellules HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

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.