

Sel HK EGFP-LaminA / H2B-mCherry | 300921

Informasi umum

Description

Garis sel HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry adalah model sel turunan HeLa Kyoto yang direkayasa secara genetik yang dikembangkan untuk memfasilitasi studi lanjutan dalam dinamika nuklir dan organisasi kromatin di dalam sel hidup. Garis sel ini mengekspresikan dua protein fusi: EGFP (protein fluoresen hijau yang disempurnakan) yang menyatu dengan Lamin A, dan mCherry (protein fluoresen merah) yang menyatu dengan Histone H2B. Fusi EGFP-Lamin A menyoroti selubung nuklir dan memungkinkan visualisasi perubahan arsitektur nuklir selama perkembangan siklus sel atau dalam berbagai kondisi eksperimental. Sementara itu, protein fusi H2B-mCherry berikatan dengan DNA dan memberikan fluoresensi merah terang yang menandai kromatin, memungkinkan pengamatan proses kromosom secara real-time selama mitosis dan interfase.

Sel-sel ini sangat berharga untuk aplikasi pencitraan waktu nyata, termasuk studi tentang integritas nuklir, replikasi DNA, dan penuaan sel, serta penelitian tentang penyakit di mana arsitektur nuklir terganggu, seperti kanker dan laminopati. Fitur fluoresensi dua warna pada lini sel ini memungkinkan visualisasi simultan dari selubung nuklir dan kromatin, sehingga memfasilitasi pemahaman yang komprehensif mengenai interaksi nuklir-sitoplasma dan organisasi spatiotemporal kromatin. Kemampuan tersebut menjadikannya alat penting untuk penelitian biologi molekuler dan biofisika seluler, memberikan wawasan tentang mekanisme regulasi ekspresi gen, organisasi nuklir, dan siklus sel.

Organism Manusia

Tissue Serviks

Disease Karsinoma

Synonyms HeLa Kyoto EGFP-LaminA dan H2B-mCherry

Karakteristik

Age 30 tahun

Gender Perempuan

Ethnicity Afrika-Amerika

Morphology Sel mirip epitel dengan bentuk batu mosaik

Growth properties Monolayer, patuh

Data Peraturan

Sel HK EGFP-LaminA / H2B-mCherry | 300921

Citation	HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry (nomor katalog Cytion 300921)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D62
Depositor	Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Garis sel HeLa Kyoto ini mengandung konstruksi EGFP-Lamin A dan H2B-mCherry, yang memungkinkan pencitraan dua warna pada lamina nukleus dan kromatin. Klasifikasi ini berlaku hanya di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.

Data Biomolekuler

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

Penanganan

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)
Supplements	Tambahkan media dengan 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.
Seeding density	1×10^4 sel/cm ²
Fluid renewal	2 hingga 3 kali per minggu

Sel HK EGFP-LaminA / H2B-mCherry | 300921

Post-Thaw Recovery

Setelah dicairkan, tanam sel pada kepadatan 5×10^4 sel/cm² dan biarkan sel pulih dari proses pembekuan serta menempel setidaknya selama 24 jam.

Freeze medium

Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada 300 x g selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfer yang dilembabkan.

Flask Coating

Tidak ada

Sel HK EGFP-LaminA / H2B-mCherry | 300921

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.

Alel 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