

Sel HK EGFP-LaminB1 / H2B-mCherry | 300919**Informasi umum****Description**

Garis sel HK EGFP-LaminB1 / H2B-mCherry adalah model in vitro turunan HeLa Kyoto yang dirancang untuk visualisasi waktu nyata dinamika kromatin dan arsitektur nuklir dalam sel hidup. Garis sel ini mengekspresikan dua fusi protein fluoresen: EGFP (protein fluoresen hijau yang disempurnakan) menyatu dengan Lamin B1, dan mCherry (protein fluoresen merah) menyatu dengan histon H2B. Perpaduan EGFP dengan Lamin B1 memungkinkan pengamatan selubung nuklir dan lamina nuklir, struktur yang sangat penting untuk menjaga integritas dan fungsionalitas nukleus. Protein lamin adalah protein filamen perantara tipe V yang membentuk jaring yang mendasari membran nuklir bagian dalam, memainkan peran penting dalam stabilitas nuklir, organisasi kromatin, dan regulasi gen.

Di sisi lain, histon H2B yang ditandai dengan mCherry memungkinkan visualisasi kromatin di dalam nukleus. Histones adalah komponen fundamental dari nukleosom, yang terlibat dalam pengaturan DNA menjadi kromatin, menjadikannya penting untuk replikasi, perbaikan, dan transkripsi DNA. Tag mCherry pada H2B memberikan fluoresensi merah terang yang kontras dengan fluoresensi hijau EGFP, memungkinkan pencitraan ganda secara simultan dari struktur nuklir dan kromatin dalam percobaan sel hidup. Garis sel ini umumnya digunakan dalam penelitian yang berfokus pada mekanika nuklir, mitosis, dan stabilitas genom, memberikan pandangan dinamis tentang proses seluler yang sulit diamati secara real time.

Organism

Manusia

Tissue

Serviks

Disease

Karsinoma

Metastatic site

Lokasi tumor primer (leher rahim)

Applications

Lamina nukleus dan organisasi kromatin; dinamika Lamin B1; pencitraan kromatin H2B; fluoresensi sel hidup dua warna; mekanika nukleus; mitosis; stabilitas genom; biologi selubung nukleus

Synonyms

HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 dan H2B-mCherry

Karakteristik**Age**

30 tahun

Gender

Perempuan

Ethnicity

Afrika-Amerika

Morphology

Sel mirip epitel dengan bentuk batu mosaik

Sel HK EGFP-LaminB1 / H2B-mCherry | 300919**Cell type** Sel epitel**Growth properties** Monolayer, patuh**Data Peraturan****Citation** HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry (nomor katalog Cytion 300919)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR41**Depositor** Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Garis sel HeLa Kyoto ini mengandung konstruksi EGFP-Lamin B1 dan H2B-mCherry untuk pemantauan struktur selubung nukleus dan organisasi kromatin. Klasifikasi ini berlaku hanya di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.**Data Biomolekuler****Protein expression** EGFP-LaminB1 / 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 NaHCO₃, w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)**Supplements** Tambahkan media dengan 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Sel HK EGFP-LaminB1 / H2B-mCherry | 300919

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/cm²

Fluid renewal 2 hingga 3 kali per minggu

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.

Sel HK EGFP-LaminB1 / H2B-mCherry | 300919

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% CO_2 , atmosfer yang dilembabkan.

Flask Coating

Tidak ada

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.

Sel HK EGFP-LaminB1 / H2B-mCherry | 300919

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.