

## Cellule HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry | 300921

## Informazioni generali

## Description

La linea cellulare HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry è un modello cellulare geneticamente modificato derivato da HeLa Kyoto, sviluppato per facilitare studi avanzati sulla dinamica nucleare e sull'organizzazione della cromatina all'interno delle cellule viventi. Questa linea cellulare esprime due proteine di fusione: EGFP (proteina fluorescente verde potenziata) fusa con la Lamina A e mCherry (proteina fluorescente rossa) fusa con l'istone H2B. La fusione EGFP-Lamina A evidenzia l'involucro nucleare e consente di visualizzare i cambiamenti dell'architettura nucleare durante la progressione del ciclo cellulare o in varie condizioni sperimentali. Nel frattempo, la proteina di fusione H2B-mCherry si lega al DNA e fornisce una vivida fluorescenza rossa che contrassegna la cromatina, consentendo l'osservazione in tempo reale dei processi cromosomici durante la mitosi e l'interfase.

Queste cellule sono preziose per le applicazioni di imaging in tempo reale, compresi gli studi sull'integrità nucleare, la replicazione del DNA e l'invecchiamento cellulare, nonché per la ricerca sulle malattie in cui l'architettura nucleare è disturbata, come il cancro e le laminopatie. La fluorescenza a doppio colore di questa linea cellulare consente la visualizzazione simultanea dell'involucro nucleare e della cromatina, facilitando una comprensione completa delle interazioni tra nucleo e citoplasma e dell'organizzazione spazio-temporale della cromatina. Tali capacità ne fanno uno strumento fondamentale per la ricerca in biologia molecolare e biofisica cellulare, fornendo approfondimenti sui meccanismi di regolazione dell'espressione genica, sull'organizzazione nucleare e sul ciclo cellulare.

**Organism** Umano

**Tissue** Cervice

**Disease** Carcinoma

**Synonyms** HeLa Kyoto EGFP-LaminaA e H2B-mCherry

## Caratteristiche

**Age** 30 anni

**Gender** Donna

**Ethnicity** Afroamericano

**Morphology** Cellule simili a quelle epiteliali con forma di pietra a mosaico

**Growth properties** Monostrato, aderente

## Dati normativi

## Cellule HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921

**Citation** HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry (numero di catalogo Cytion 300921)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1D62

**Depositor** Il laboratorio Ellenberg (EMBL)

**GMO Status** GMO-S1: questa linea HeLa Kyoto contiene costrutti EGFP-Lamin A e H2B-mCherry che consentono l'imaging a doppio colore della lamina nucleare e della cromatina. Questa classificazione è valida solo in Germania e può differire in altri paesi.

## Dati biomolecolari

**Protein expression** EGFP-LaminA/H2B-mCherry

**Products** Istone H2B

## Manipolazione

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)

**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

**Split ratio** Si raccomanda un rapporto di 1:3

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  cellule/cm<sup>2</sup>

## Cellule HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921

**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana

**Post-Thaw Recovery** Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a  $5 \times 10^4$  cellule/cm<sup>2</sup> e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.

**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

### Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, atmosfera umidificata.

**Flask Coating** Nessuno

## Cellule HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921

### Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

### Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

### Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

## Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

### Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

### Alleli 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