

Komórki HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry jest genetycznie zmodyfikowanym modelem komórkowym pochodzącym z HeLa Kyoto, opracowanym w celu ułatwienia zaawansowanych badań nad dynamiką jądrową i organizacją chromatyny w żywych komórkach. Ta linia komórkowa wyraża dwa białka fuzyjne: EGFP (wzmocnione zielone białko fluorescencyjne) połączone z laminą A i mCherry (czerwone białko fluorescencyjne) połączone z histonem H2B. Fuzja EGFP z laminą A podkreśla otoczkę jądrową i pozwala na wizualizację zmian architektury jądrowej podczas progresji cyklu komórkowego lub w różnych warunkach eksperymentalnych. Tymczasem białko fuzyjne H2B-mCherry wiąże się z DNA i zapewnia żywą czerwoną fluorescencję, która oznacza chromatynę, umożliwiając obserwację w czasie rzeczywistym procesów chromosomalnych podczas mitozy i interfazy.

Komórki te są nieocenione w zastosowaniach obrazowania w czasie rzeczywistym, w tym w badaniach nad integralnością jądrową, replikacją DNA i starzeniem się komórek, a także w badaniach nad chorobami, w których architektura jądrowa jest zaburzona, takimi jak rak i laminopatie. Dwukolorowa fluorescencja tej linii komórkowej pozwala na jednoczesną wizualizację zarówno otoczki jądrowej, jak i chromatyny, ułatwiając kompleksowe zrozumienie interakcji jądrowo-cytoplazmatycznych i przestrzenno-czasowej organizacji chromatyny. Takie możliwości sprawiają, że jest to krytyczne narzędzie do badań biologii molekularnej i biofizyki komórkowej, zapewniające wgląd w mechanikę regulacji ekspresji genów, organizację jądrową i cykl komórkowy.

Organism

Człowiek

Tissue

Szyjka macicy

Disease

Rak

Synonyms

HeLa Kyoto EGFP-LaminA i H2B-mCherry

Charakterystyka**Age**

30 lat

Gender

Kobieta

Ethnicity

Afroamerykanin

Morphology

Komórki podobne do nabłonka o mozaikowym kształcie kamienia

Growth properties

Monowarstwa, przylegająca

Dane regulacyjne

Komórki HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry | 300921**Citation** HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry (numer katalogowy Cytion 300921)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D62**Depositor** Laboratorium Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ta linia HeLa Kyoto zawiera konstrukcje EGFP-Lamin A i H2B-mCherry, umożliwiające dwukolorowe obrazowanie laminy jądrowej i chromatyny. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może się różnić w innych krajach.**Dane biomolekularne****Protein expression** EGFP-LaminaA/H2B-mCherry**Products** Histon H2B**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:3**Seeding density** 1×10^4 kom^{órek}/cm²

Komórki HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry | 300921**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Post-Thaw Recovery** Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć do podłoża.**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.**Thawing and Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otwórz zdezynfekowaną fiolkę i przenieś zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, nawilżona atmosfera.**Flask Coating** Brak

Komórki HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry | 300921

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Allele 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