

Celule HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921**Informații generale****Description**

Linia celulară HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry este un model celular modificat genetic, derivat din HeLa Kyoto, dezvoltat pentru a facilita studiile avansate privind dinamica nucleară și organizarea cromatinei în cadrul celulelor vii. Această linie celulară exprimă două proteine de fuziune: EGFP (proteină fluorescentă verde îmbunătățită) fuzionată cu Lamin A și mCherry (o proteină fluorescentă roșie) fuzionată cu Histona H2B. Fuziunea EGFP-Lamin A evidențiază învelișul nuclear și permite vizualizarea modificărilor arhitecturii nucleare în timpul progresiei ciclului celular sau în diferite condiții experimentale. Între timp, proteina de fuziune H2B-mCherry se leagă de ADN și oferă o fluorescență roșie vie care marchează cromatina, permițând observarea în timp real a proceselor cromozomiale în timpul mitozei și interfazei.

Aceste celule sunt neprețuite pentru aplicații de imagistică în timp real, inclusiv pentru studii privind integritatea nucleară, replicarea ADN-ului și îmbătrânirea celulară, precum și pentru cercetarea bolilor în care arhitectura nucleară este perturbată, cum ar fi cancerul și laminopatiile. Caracteristica de fluorescență în două culori a acestei linii celulare permite vizualizarea simultană atât a învelișului nuclear, cât și a cromatinei, facilitând o înțelegere cuprinzătoare a interacțiunilor nucleu-citoplasmice și a organizării spațio-temporale a cromatinei. Aceste capacități o transformă într-un instrument esențial pentru cercetarea în domeniul biologiei moleculare și al biofizicii celulare, oferind informații despre mecanismele de reglare a expresiei genice, organizarea nucleară și ciclul celular.

Organism Om**Tissue** Cervix**Disease** Carcinom**Synonyms** HeLa Kyoto EGFP-LaminA și H2B-mCherry**Caracteristici****Age** 30 de ani**Gender** Femei**Ethnicity** African american**Morphology** Celule de tip epitelial cu formă de piatră mozaicată**Growth properties** Monostrat, aderent**Date de reglementare**

Celule HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921**Citation** HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry (număr de catalog Cytion 300921)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D62**Depositor** Laboratorul Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Această linie HeLa Kyoto conține constructe EGFP-Lamin A și H2B-mCherry care permit imagistica în două culori a laminei nucleare și a cromatinei. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.**Date biomoleculare****Protein expression** EGFP-LaminA/H2B-mCherry**Products** Histona H2B**Manipulare****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.**Seeding density** 1×10^4 celule/cm²**Fluid renewal** de 2 până la 3 ori pe săptămână

Celule HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921

Post-Thaw Recovery

După decongelare, plasați celulele la 5×10^4 celule/cm² și lăsați-le să se recupereze după procesul de congelare și să adere timp de cel puțin 24 de ore.

Freeze medium

Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Celule HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921

Freezing Procedure

Liniiile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniiile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Alele 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