

Celule HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

Informații generale

Description

Linia celulară HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry este un model in vitro derivat din HeLa Kyoto conceput pentru vizualizarea în timp real a dinamicii cromatinei și a arhitecturii nucleare în celulele vii. Această linie celulară exprimă două fuziuni de proteine fluorescente: EGFP (proteină fluorescentă verde îmbunătățită) fuzionată cu Lamin B1 și mCherry (o proteină fluorescentă roșie) fuzionată cu histona H2B. Fuziunea EGFP cu Lamin B1 permite observarea învelișului nuclear și a laminei nucleare, structuri esențiale pentru menținerea integrității și funcționalității nucleului. Proteinele Lamin sunt proteine cu filament intermediar de tip V care formează un ochi de plasă sub membrana nucleară internă, jucând roluri-cheie în stabilitatea nucleară, organizarea cromatinei și reglarea genelor.

Pe de altă parte, histona H2B marcată cu mCherry permite vizualizarea cromatinei în nucleu. Histonele sunt componente fundamentale ale nucleozomului, implicate în organizarea ADN-ului în cromatină, ceea ce le face cruciale pentru replicarea, repararea și transcrierea ADN-ului. Eticheta mCherry de pe H2B oferă o fluorescență roșie vie care contrastează cu fluorescența verde a EGFP, permițând o dublă imagistică simultană a structurii nucleare și a cromatinei în experimente pe celule vii. Această linie celulară este utilizată în mod obișnuit în studii axate pe mecanica nucleară, mitoză și stabilitatea genomului, oferind o imagine dinamică a proceselor celulare care sunt altfel dificil de observat în timp real.

Organism Om

Tissue Cervix

Disease Carcinom

Synonyms HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 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-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

Citation HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry (număr de catalog Cytion 300919)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_UR41

Depositor Laboratorul Ellenberg (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Această linie HeLa Kyoto conține constructe EGFP-Lamin B1 și H2B-mCherry pentru imagistica învelișului nuclear și organizarea cromatinei. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.

Date biomoleculare

Protein expression EGFP-LaminB1/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-LaminB1/H2B-mCherry | 300919**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-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

Freezing Procedure

Liniile 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

Liniile 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.