

Tế bào HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

Thông tin chung

Description

Dòng tế bào HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry là một mô hình in vitro được phát triển từ dòng tế bào HeLa Kyoto, được thiết kế để quan sát trực tiếp động học của chromatin và cấu trúc nhân trong tế bào sống. Dòng tế bào này biểu hiện hai protein huỳnh quang ghép: EGFP (protein huỳnh quang xanh lá cây tăng cường) ghép với Lamin B1, và mCherry (protein huỳnh quang đỏ) ghép với histone H2B. Sự kết hợp của EGFP với Lamin B1 cho phép quan sát màng nhân và lớp lamina nhân, các cấu trúc quan trọng trong việc duy trì tính toàn vẹn và chức năng của nhân. Các protein Lamin là protein sợi trung gian loại V, tạo thành một mạng lưới nằm dưới màng nhân trong, đóng vai trò quan trọng trong sự ổn định của nhân, tổ chức chromatin và điều hòa gen.

Mặt khác, histone H2B được gắn mCherry cho phép quan sát chromatin bên trong nhân. Histones là thành phần cơ bản của nucleosome, tham gia vào việc tổ chức DNA thành chromatin, do đó chúng đóng vai trò quan trọng trong quá trình sao chép, sửa chữa và phiên mã DNA. Thẻ mCherry trên H2B cung cấp ánh sáng huỳnh quang đỏ rực rỡ, tương phản với ánh sáng huỳnh quang xanh của EGFP, cho phép quan sát đồng thời cấu trúc nhân và chromatin trong các thí nghiệm tế bào sống. Dòng tế bào này thường được sử dụng trong các nghiên cứu tập trung vào cơ chế nhân, phân bào và ổn định bộ gen, cung cấp cái nhìn động về các quá trình tế bào vốn khó quan sát trong thời gian thực.

Organism

Con người

Tissue

Cổ tử cung

Disease

Ung thư biểu mô

Synonyms

HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 và H2B-mCherry

Đặc điểm

Age

30 năm

Gender

Nữ

Ethnicity

Người Mỹ gốc Phi

Morphology

Tế bào có hình dạng giống biểu mô với cấu trúc dạng đá mozaic

Growth properties

Lớp đơn, bám dính

Dữ liệu quy định

Citation

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry (Số catalog của Cytion: 300919)

Tế bào HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_UR41
Depositor	Phòng thí nghiệm Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Dòng tế bào HeLa Kyoto này chứa các cấu trúc EGFP-Lamin B1 và H2B-mCherry để quan sát cấu trúc màng nhân và tổ chức chromatin. Phân loại này chỉ áp dụng trong phạm vi Đức và có thể khác nhau ở các khu vực khác.

Dữ liệu sinh học phân tử

Protein expression EGFP-LaminB1/H2B-mCherry

Products Histone H2B

Xử lý

Culture Medium DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L NaHCO₃, chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)

Supplements Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.

Seeding density 1×10^4 tế bào/cm²

Fluid renewal 2 đến 3 lần mỗi tuần

Post-Thaw Recovery Sau khi rã đông, cấy tế bào với mật độ 5×10^4 tế bào/cm² và để tế bào phục hồi sau quá trình đông lạnh và bám dính ít nhất 24 giờ.

Tế bào HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919**Freeze medium**

Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Thawing and Culturing Cells

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở 300 x g trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Không có

Freezing Procedure

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196°C . Việc bảo quản ở -80°C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.