Product sheet

Клетки HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

Обща информация

Description	Клетъчната линия HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry е in vitro модел, получен от Hela Kyoto, предназначен за визуализиране в реално време на динамиката на хроматина и ядрената архитектура в живи клетки. Тази клетъчна линия експресира две флуоресцентни протеинови сливания: EGFP (подобрен зелен флуоресцентен протеин), слят с Ламин B1, и mCherry (червен флуоресцентен протеин), слят с хистон H2B. Сливането на EGFP с Ламин B1 позволява да се наблюдават ядрената обвивка и ядрената пластинка - структури, които са от решаващо значение за поддържане на целостта и функционалността на ядрото. Ламиновите протеини са междинни нишковидни протеини от тип V, които образуват мрежа под вътрешната ядрена мембрана и играят ключова роля в ядрената стабилност, организацията на хроматина и генната регулация. От друга страна, маркираният с mCherry хистон H2B дава възможност за визуализиране на хроматина в ядрото. Хистоните са основни компоненти на нуклеозомата, участващи в организирането на ДНК в хроматин, което ги прави изключително важни за репликацията, възстановяването и транскрипцията на ДНК. Тагът mCherry на H2B осигурява ярка червена флуоресценция, която контрастира със зелената флуоресценция на EGFP, позволявайки едновременно двойно изобразяване на ядрената структура и хроматина при експерименти с живи клетки. Тази клетъчна линия обикновено се използва в изследвания, насочени към ядрената механика, митозата и стабилността на генома, като осигурява динамичен поглед върху клетъчните процеси, които иначе е трудно да се наблюдават в реално време.
Organism	Човек
Tissue	Цервикс
Disease	Карцином
Metastatic site	Място на първичния тумор (шийката на матката)
Applications	Ядрена ламина и организация на хроматина; динамика на ламина B1; визуализация на H2B хроматина; двуцветна флуоресценция на живи клетки; ядрена механика; митоза; стабилност на генома; биология на ядрената обвивка
Synonyms	HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 и H2B-mCherry

Характеристики

Age	30 години
Gender	Жена
Ethnicity	Афроамериканец

Клетки HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

Morphology	Епителиални клетки с форма на мозаечно камъче
Cell type	Епителни клетки
Growth properties	Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation	HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry (каталожен номер 300919 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_UR41
Depositor	Лабораторията на Елънбърг (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Тази линия HeLa Kyoto съдържа конструкции EGFP-Lamin B1 и H2B-mCherry за визуализиране на ядрената мембрана и хроматиновата организация. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Protein expression	EGFP-LaminB1/H2B-mCherry
Products	Хистон H2B

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Клетки HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	1×10^4 клетки/cm^2
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/cm^2 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.