

HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry buňky | 300921

Obecné informace

Description

Buněčná linie HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry je geneticky upravený buněčný model odvozený od HeLa Kyoto, který byl vyvinut pro usnadnění pokročilých studií jaderné dynamiky a organizace chromatinu v živých buňkách. Tato buněčná linie exprimuje dva fúzní proteiny: EGFP (rozšířený zelený fluorescenční protein) fúzovaný s laminem A a mCherry (červený fluorescenční protein) fúzovaný s histonem H2B. Fúze EGFP-Lamin A zvýrazňuje jaderný obal a umožňuje vizualizaci změn jaderné architektury během vývoje buněčného cyklu nebo za různých experimentálních podmínek. Mezitím se fúzní protein H2B-mCherry váže na DNA a poskytuje živou červenou fluorescenci, která označuje chromatin, což umožňuje pozorovat chromozomální procesy v reálném čase během mitózy a interfáze.

Tyto buňky jsou neocenitelné pro aplikace zobrazování v reálném čase, včetně studií jaderné integrity, replikace DNA a buněčného stárnutí, a také pro výzkum nemocí, u nichž je narušena jaderná architektura, jako je rakovina a laminopatie. Funkce dvoubarevné fluorescence této buněčné linie umožňuje simultánní vizualizaci jaderného obalu i chromatinu, což usnadňuje komplexní pochopení jaderně-cytoplazmatických interakcí a časoprostorové organizace chromatinu. Díky těmto schopnostem je to zásadní nástroj pro výzkum v oblasti molekulární biologie a buněčné biofyziky, který umožňuje nahlédnout do mechanismu regulace genové exprese, jaderné organizace a buněčného cyklu.

Organism Člověk

Tissue Cervix

Disease Karcinom

Synonyms HeLa Kyoto EGFP-LaminA a H2B-mCherry

Charakteristika

Age 30 let

Gender Ženy

Ethnicity Afroameričan

Morphology Buňky podobné epitelu s mozaikovitým tvarem kamínků

Growth properties Monovrstva, adherentní

Regulační údaje

HK EGFP-Lamina/H2B-mCherry buňky | 300921

Citation	HK EGFP-Lamina/H2B-mCherry (katalogové číslo Cytion 300921)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D62
Depositor	Ellenbergova laboratoř (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Tato linie HeLa Kyoto obsahuje konstrukty EGFP-Lamin A a H2B-mCherry, které umožňují dvoubarevné zobrazení jaderné laminy a chromatinu. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Protein expression	EGFP-Lamina/H2B-mCherry
Products	Histon H2B

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:3

Seeding density	1 x 10 ⁴ buněk/cm ²
------------------------	---

HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry buňky | 300921**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.**Thawing and Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.**Flask Coating** Žádný

HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry buňky | 300921**Freezing Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Alely 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