

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry buňky | 300919

Obecné informace

Description

Buněčná linie HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry je in vitro model odvozený od HeLa Kyoto a určený pro vizualizaci dynamiky chromatinu a jaderné architektury v živých buňkách v reálném čase. Tato buněčná linie exprimuje dvě fluorescenční proteinové fúze: EGFP (zesílený zelený fluorescenční protein) fúzovaný s laminem B1 a mCherry (červený fluorescenční protein) fúzovaný s histonem H2B. Fúze EGFP s laminem B1 umožňuje pozorovat jaderný obal a jadernou lamelu, struktury důležité pro zachování integrity a funkčnosti jádra. Laminové proteiny jsou proteiny intermediárních filament typu V, které tvoří síť pod vnitřní jadernou membránou a hrají klíčovou roli ve stabilitě jádra, organizaci chromatinu a genové regulaci.

Na druhé straně histon H2B značený mCherry umožňuje vizualizaci chromatinu uvnitř jádra. Histony jsou základními složkami nukleozomu, které se podílejí na organizaci DNA do chromatinu, a jsou tak klíčové pro replikaci, opravy a transkripci DNA. Značka mCherry na H2B poskytuje živou červenou fluorescenci, která kontrastuje se zelenou fluorescencí EGFP, což umožňuje současné duální zobrazení jaderné struktury a chromatinu v experimentech s živými buňkami. Tato buněčná linie se běžně používá ve studiích zaměřených na jadernou mechaniku, mitózu a stabilitu genomu a poskytuje dynamický pohled na buněčné procesy, které je jinak obtížné pozorovat v reálném čase.

Organism Člověk

Tissue Cervix

Disease Karcinom

Synonyms HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 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

Citation HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry (katalogové číslo Cytion 300919)

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry buňky | 300919

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR41**Depositor** Ellenbergova laboratoř (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Tato linie HeLa Kyoto obsahuje konstrukty EGFP-Lamin B1 a H2B-mCherry pro zobrazování jaderné obálky a organizace chromatinu. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.**Biomolekulární data****Protein expression** EGFP-LaminB1/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 NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčiku. 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** 1×10^4 buněk/cm²**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry buňky | 300919**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 zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazícího 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-LaminB1/H2B-mCherry buňky | 300919

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.