

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry-celler | 300919

General information

Description

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry-cellelinjen er en HeLa Kyoto-afledt in vitro-model designet til realtidsvisualisering af kromatin-dynamik og kernearkitektur i levende celler. Denne cellelinje udtrykker to fluorescerende proteinfusioner: EGFP (forstærket grønt fluorescerende protein) fusioneret med Lamin B1 og mCherry (et rødt fluorescerende protein) fusioneret med histon H2B. Fusionen af EGFP med Lamin B1 gør det muligt at observere kernehylsteret og kernelaminaen, strukturer, der er afgørende for at opretholde kernens integritet og funktionalitet. Lamin-proteiner er type V mellemliggende filamentproteiner, der danner et net under den indre kernemembran og spiller nøgleroller i nuklear stabilitet, kromatinorganisation og genregulering.

På den anden side gør den mCherry-mærkede histon H2B det muligt at visualisere kromatin i kernen. Histoner er grundlæggende komponenter i nukleosomet, der er involveret i organiseringen af DNA i kromatin, hvilket gør dem afgørende for DNA-replikation, -reparation og -transkription. MCherry-tagget på H2B giver en levende rød fluorescens, der står i kontrast til den grønne fluorescens af EGFP, hvilket giver mulighed for samtidig dobbeltafbildning af kernestrukturen og kromatin i eksperimenter med levende celler. Denne cellelinje bruges ofte i undersøgelser med fokus på kernemekanik, mitose og genomstabilitet, hvilket giver et dynamisk billede af cellulære processer, som ellers er vanskelige at observere i realtid.

Organism

Menneske

Tissue

Livmoderhalsen

Disease

Karcinom

Metastatic site

Primærtumorens placering (livmoderhalsen)

Applications

Kernelamina og kromatinorganisation; Lamin B1-dynamik; H2B-kromatinavbildning; tofarvet fluorescens i levende celler; kernemekanik; mitose; genomstabilitet; kernehindens biologi

Synonyms

HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 og H2B-mCherry

Karakteristika

Age

30 år

Gender

Kvinde

Ethnicity

Afroamerikaner

Morphology

Epitel-lignende celler med mosaikstenform

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry-celler | 300919

Cell type Epitheliale celler

Growth properties Monolag, klæbende

Regulatoriske data

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

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_UR41

Depositor Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linje indeholder EGFP-Lamin B1- og H2B-mCherry-konstruktioner til billeddannelse af kernehinden og kromatinorganisationen. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.

Biomolekylære data

Protein expression EGFP-LaminB1/H2B-mCherry

Products Histon H2B

Håndtering

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements Suppler mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry-celler | 300919

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Seeding density 1×10^4 celler/cm²

Fluid renewal 2 til 3 gange om ugen

Post-Thaw Recovery Efter optøning skal cellerne udplades med 5×10^4 celler/cm², og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.

Freeze medium Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry-celler | 300919

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry-celler | 300919

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.