

HK EGFP-Lamina/H2B-mCherry-Zellen | 300921

Allgemeine Informationen

Description

Die HK EGFP-Lamina/H2B-mCherry-Zelllinie ist ein gentechnisch verändertes, von HeLa Kyoto abgeleitetes Zellmodell, das entwickelt wurde, um fortgeschrittene Studien zur Kerndynamik und Chromatinorganisation in lebenden Zellen zu ermöglichen. Diese Zelllinie exprimiert zwei Fusionsproteine: EGFP (verstärktes grün fluoreszierendes Protein), das mit Lamin A fusioniert ist, und mCherry (ein rot fluoreszierendes Protein), das mit Histon H2B fusioniert ist. Die EGFP-Lamin A-Fusion hebt die Kernhülle hervor und ermöglicht die Visualisierung von Veränderungen der Kernarchitektur während des Zellzyklus oder unter verschiedenen Versuchsbedingungen. Das H2B-mCherry-Fusionsprotein hingegen bindet an die DNA und sorgt für eine lebhafte rote Fluoreszenz, die das Chromatin markiert und die Beobachtung chromosomaler Prozesse während der Mitose und der Interphase in Echtzeit ermöglicht.

Diese Zellen sind von unschätzbarem Wert für Echtzeit-Bildgebungsanwendungen, einschließlich Studien über die Unversehrtheit des Kerns, die DNA-Replikation und die Zellerterung, sowie für die Erforschung von Krankheiten, bei denen die Kernarchitektur gestört ist, wie Krebs und Laminopathien. Die zweifarbige Fluoreszenz dieser Zelllinie ermöglicht die gleichzeitige Visualisierung der Kernhülle und des Chromatins, was ein umfassendes Verständnis der Wechselwirkungen zwischen Kern und Zytoplasma sowie der räumlichen und zeitlichen Organisation des Chromatins ermöglicht. Diese Fähigkeiten machen sie zu einem wichtigen Werkzeug für die molekularbiologische Forschung und die zelluläre Biophysik, das Einblicke in die Mechanismen der Genexpressionsregulation, der Kernorganisation und des Zellzyklus ermöglicht.

Organism Menschen

Tissue Gebärmutterhals

Disease Karzinom

Synonyms HeLa Kyoto EGFP-Lamina und H2B-mCherry

Merkmale

Age 30 Jahre

Gender Weiblich

Ethnicity Afroamerikaner

Morphology Epithelähnliche Zellen mit mosaikartiger Steinform

Growth properties Monolayer, haftend

Regulatorische Daten

HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry-Zellen | 300921

Citation	HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry (Cytion Katalognummer 300921)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D62
Depositor	Das Ellenberg-Labor (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Diese HeLa-Kyoto-Linie enthält EGFP-Lamin A- und H2B-mCherry-Konstrukte, die eine zweifarbige Bildgebung der Kernlamina und des Chromatins ermöglichen. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

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

Handhabung

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
Split ratio	Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3
Seeding density	1×10^4 Zellen/cm ²

HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry-Zellen | 300921

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

Post-Thaw Recovery Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5×10^4 Zellen/cm² ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhären lassen.

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating Keine

HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry-Zellen | 300921

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

HLA-Allele

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