

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

Allgemeine Informationen

Description

Die HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry-Zelllinie ist ein von HeLa Kyoto abgeleitetes In-vitro-Modell, das für die Echtzeit-Visualisierung der Chromatindynamik und Kernarchitektur in lebenden Zellen entwickelt wurde. Diese Zelllinie exprimiert zwei fluoreszierende Proteinfusionen: EGFP (enhanced green fluorescent protein), das mit Lamin B1 fusioniert ist, und mCherry (ein rot fluoreszierendes Protein), das mit Histon H2B fusioniert ist. Die Fusion von EGFP mit Lamin B1 ermöglicht die Beobachtung der Kernhülle und der Kernlamina, Strukturen, die für die Aufrechterhaltung der Integrität und Funktionalität des Zellkerns entscheidend sind. Lamin-Proteine sind Proteine des Typs V der Intermediärfilamente, die ein Geflecht unter der inneren Kernmembran bilden und eine Schlüsselrolle bei der Kernstabilität, der Chromatinorganisation und der Genregulation spielen.

Andererseits ermöglicht das mit mCherry markierte Histon H2B die Visualisierung des Chromatins innerhalb des Zellkerns. Histone sind grundlegende Bestandteile des Nukleosoms, die an der Organisation der DNA in Chromatin beteiligt sind und somit eine entscheidende Rolle bei der DNA-Replikation, -Reparatur und -Transkription spielen. Der mCherry-Tag auf H2B sorgt für eine lebhafte rote Fluoreszenz, die mit der grünen Fluoreszenz von EGFP kontrastiert und die gleichzeitige Darstellung der Kernstruktur und des Chromatins bei Experimenten in lebenden Zellen ermöglicht. Diese Zelllinie wird häufig in Studien zur Kernmechanik, Mitose und Genomstabilität eingesetzt und ermöglicht einen dynamischen Blick auf zelluläre Prozesse, die sonst nur schwer in Echtzeit zu beobachten sind.

Organism Menschen

Tissue Gebärmutterhals

Disease Karzinom

Metastatic site Primärtumorlokalisierung (Gebärmutterhals)

Applications Kernlamina und Chromatinorganisation; Dynamik von Lamin B1; H2B-Chromatin-Bildgebung; zweifarbige Fluoreszenz in lebenden Zellen; Kernmechanik; Mitose; Genomstabilität; Biologie der Kernhülle

Synonyms HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 und H2B-mCherry

Merkmale

Age 30 Jahre

Gender Weiblich

Ethnicity Afroamerikaner

Morphology Epithelähnliche Zellen mit mosaikartiger Steinform

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry-Zellen | 300919**Cell type** Epithelzellen**Growth properties** Monolayer, haftend**Regulatorische Daten****Citation** HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry (Cytion-Katalognummer 300919)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR41**Depositor** Das Ellenberg-Labor (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Diese HeLa-Kyoto-Linie enthält EGFP-Lamin B1- und H2B-mCherry-Konstrukte zur Darstellung der Kernhülle und der Chromatinorganisation. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.**Biomolekulare Daten****Protein expression** EGFP-LaminB1/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 NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

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

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenen 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/cm²

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.

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

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $300 \times g$, 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% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

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

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.