Product sheet

Κύτταρα HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry είναι ένα γενετικά τροποποιημένο κυτταρικό μοντέλο που προέρχεται από το Hela Kyoto και αναπτύχθηκε για να διευκολύνει προηγμένες μελέτες στην πυρηνική δυναμική και την οργάνωση της χρωματίνης μέσα σε ζωντανά κύτταρα. Αυτή η κυτταρική σειρά εκφράζει δύο πρωτεΐνες σύντηξης: (ενισχυμένη πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη) συγχωνευμένη με Lamin A και mCherry (κόκκινη φθορίζουσα πρωτεΐνη) συγχωνευμένη με ιστόνη H2B. Η σύντηξη EGFP-Lamin A αναδεικνύει το πυρηνικό περίβλημα και επιτρέπει την απεικόνιση των αλλαγών της πυρηνικής αρχιτεκτονικής κατά την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου ή υπό διάφορες πειραματικές συνθήκες. Εν τω μεταξύ, η πρωτεΐνη σύντηξης H2B-mCherry συνδέεται με το DNA και παρέχει έναν έντονο κόκκινο φθορισμό που επισημαίνει τη χρωματίνη, επιτρέποντας την παρατήρηση σε πραγματικό χρόνο των χρωμοσωμικών διεργασιών κατά τη μίτωση και τη μεσοφάση. Τα κύτταρα αυτά είναι ανεκτίμητα για εφαρμογές απεικόνισης σε πραγματικό χρόνο, συμπεριλαμβανομένων μελετών σχετικά με την πυρηνική ακεραιότητα, την αντιγραφή του DNA και την κυτταρική γήρανση, καθώς και για την έρευνα ασθενειών όπου η πυρηνική αρχιτεκτονική διαταράσσεται, όπως ο καρκίνος και οι λαμινοπάθειες. Το χαρακτηριστικό φθορισμού διπλού χρώματος αυτής της κυτταρικής σειράς επιτρέπει την ταυτόχρονη απεικόνιση τόσο του πυρηνικού περιβλήματος όσο και της χρωματίνης, διευκολύνοντας τη συνολική κατανόηση των πυρηνικών-κυτταροπλασματικών αλληλεπιδράσεων και της χωροχρονικής οργάνωσης της χρωματίνης. Οι δυνατότητες αυτές την καθιστούν ένα κρίσιμο εργαλείο για την έρευνα της μοριακής βιολογίας και της κυτταρικής βιοφυσικής, παρέχοντας γνώσεις σχετικά με τη μηχανική της ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης, της πυρηνικής οργάνωσης και του κυτταρικού κύκλου.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Τράχηλος μήτρας
Disease	Καρκίνωμα
Synonyms	HeLa Kyoto EGFP-LaminA και H2B-mCherry

Χαρακτηριστικά

Age	30 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Αφροαμερικανός
Morphology	Επιθηλιακά κύτταρα με ψηφιδωτό σχήμα πέτρας
Growth properties	Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Κύτταρα HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry (αριθμός καταλόγου Cytion 300921)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D62
Depositor	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η σειρά HeLa Kyoto περιέχει κατασκευάσματα EGFP-Lamin A και H2B-mCherry που επιτρέπουν τη διχρωματική απεικόνιση της πυρηνικής μεμβράνης και της χρωματίνης. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο στη Γερμανία και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	EGFP-LaminA/H2B-mCherry
Products	Ιστόνη H2B

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Κύτταρα HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921

Seeding density	1 x 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5 x 10^4 κύτταρα/cm^2 και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Κύτταρα HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Flask Coating	Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.
Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.
HLA αλληλόμορφα	**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