Product sheet

Κύτταρα HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry είναι ένα in vitro μοντέλο Hela Kyoto που έχει σχεδιαστεί για την οπτικοποίηση της δυναμικής της χρωματίνης και της πυρηνικής αρχιτεκτονικής σε ζωντανά κύτταρα σε πραγματικό χρόνο. Αυτή η κυτταρική σειρά εκφράζει δύο συγχωνεύσεις φθορίζουσας πρωτεΐνης: Και mCherry (κόκκινη φθορίζουσα πρωτεΐνη), η οποία είναι συγχωνευμένη με την ιστόνη H2B. Η σύντηξη της EGFP με το Lamin B1 επιτρέπει την παρατήρηση του πυρηνικού περιβλήματος και του πυρηνικού ελάσματος, δομές κρίσιμες για τη διατήρηση της ακεραιότητας και της λειτουργικότητας του πυρήνα. Οι πρωτεΐνες Lamin είναι πρωτεΐνες ενδιάμεσων νηματίων τύπου V που σχηματίζουν ένα πλέγμα που βρίσκεται κάτω από την εσωτερική πυρηνική μεμβράνη, διαδραματίζοντας βασικούς ρόλους στην πυρηνική σταθερότητα, την οργάνωση της χρωματίνης και τη γονιδιακή ρύθμιση. Από την άλλη πλευρά, η σημασμένη με mCherry ιστόνη H2B επιτρέπει την οπτικοποίηση της χρωματίνης εντός του πυρήνα. Οι ιστόνες είναι θεμελιώδη συστατικά του νουκλεοσώματος, που εμπλέκονται στην οργάνωση του DNA στη χρωματίνη, καθιστώντας τις ζωτικής σημασίας για την αντιγραφή, την επιδιόρθωση και τη μεταγραφή του DNA. Η ετικέτα mCherry στην H2B παρέχει έναν ζωηρό κόκκινο φθορισμό που έρχεται σε αντίθεση με τον πράσινο φθορισμό της EGFP, επιτρέποντας την ταυτόχρονη διπλή απεικόνιση της πυρηνικής δομής και της χρωματίνης σε πειράματα με ζωντανά κύτταρα. Αυτή η κυτταρική σειρά χρησιμοποιείται συνήθως σε μελέτες που επικεντρώνονται στην πυρηνική μηχανική, τη μίτωση και τη σταθερότητα του γονιδιώματος, παρέχοντας μια δυναμική εικόνα των κυτταρικών διεργασιών που διαφορετικά είναι δύσκολο να παρατηρηθούν σε πραγματικό χρόνο.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Τράχηλος μήτρας
Disease	Καρκίνωμα
Metastatic site	Θέση πρωτογενούς όγκου (τράχηλος της μήτρας)
Applications	Πυρηνική λάμνα και οργάνωση της χρωματίνης· δυναμική της λαμίνης B1· απεικόνιση της χρωματίνης H2B· φθορισμός ζωντανών κυττάρων δύο χρωμάτων· πυρηνική μηχανική· μίτωση· σταθερότητα του γονιδιώματος· βιολογία του πυρηνικού περιβλήματος
Synonyms	HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 και H2B-mCherry

Χαρακτηριστικά

Age	30 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Αφροαμερικανός

Κύτταρα HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

Morphology	Επιθηλιακά κύτταρα με ψηφιδωτό σχήμα πέτρας
Cell type	Επιθηλιακά κύτταρα
Growth properties	Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry (αριθμός καταλόγου Cytion 300919)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_UR41
Depositor	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η σειρά HeLa Kyoto περιέχει κατασκευάσματα EGFP-Lamin B1 και H2B-mCherry για την απεικόνιση του πυρηνικού περιβλήματος και της οργάνωσης της χρωματίνης. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	EGFP-LaminB1/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

Κύτταρα HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

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.
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.

Κύτταρα HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

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.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

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.

Κύτταρα HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

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.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

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.