

HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry rakud | 300921

Üldine teave

Description

HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry rakuliin on geneetiliselt muundatud HeLa Kyoto rakumudel, mis on välja töötatud, et hõlbustada tuumadünaamika ja kromatiini korralduse edasijõudnud uuringuid elusrakkudes. See rakuliin ekspresseerib kahte fusioonvalku: EGFP (tugevdatud roheline fluorestseeruv valk), mis on fusioonis Lamin A ja mCherry (punane fluorestseeruv valk), mis on fusioonis Histon H2B-ga. EGFP-Lamin A-fusioon toob esile tuumakesta ja võimaldab visualiseerida tuumaarhitektuuri muutusi rakutsükli edenemise ajal või erinevates katsetustingimustes. Samal ajal seondub H2B-mCherry fusioonvalk DNA-ga ja annab kromatiini tähistava elava punase fluorestsentsi, mis võimaldab kromosoomsete protsesside jälgimist reaalajas mitoosi ja interfaasi ajal.

Need rakud on hindamatu väärtusega reaalajas pildistamise rakenduste jaoks, sealhulgas tuuma terviklikkuse, DNA replikatsiooni ja rakkude vananemise uuringutes, samuti selliste haiguste uurimisel, kus tuumaarhitektuur on häiritud, nagu vähk ja laminoopiad. Selle rakuliini kahevärviline fluorestsents võimaldab samaaegselt visualiseerida nii tuumakesta kui ka kromatiini, hõlbustades tuuma ja tsütoplasma interaktsioonide ja kromatiini ruumilis-ajalise korralduse terviklikku mõistmist. Sellised võimalused muudavad selle kriitiliseks vahendiks molekulaarbioloogiliste uuringute ja rakulise biofüüsika jaoks, andes ülevaate geeniekspressiooni regulatsiooni, tuumaorganisatsiooni ja rakutsükli mehaanikast.

Organism Inimene

Tissue Emakakael

Disease Kartsinoom

Synonyms HeLa Kyoto EGFP-LaminA ja H2B-mCherry

Omadused

Age 30 aastat

Gender Naised

Ethnicity Afroameeriklane

Morphology Epiteelilaadsed rakud, millel on mosaiikne kivikuju

Growth properties Monokihiline, kleepuv

Regulatiivsed andmed

HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry rakud | 300921

Citation	HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry (Cytioni katalooginumber 300921)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D62
Depositor	Ellenbergi labor (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: See HeLa Kyoto liin sisaldab EGFP-Lamin A ja H2B-mCherry konstruktsioone, mis võimaldavad tuumalamina ja kromatiini kahevärvilist kujutamist. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

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

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Seeding density	1 x 10 ⁴ rakku/cm ²
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas

HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry rakud | 300921**Post-Thaw Recovery**

Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry rakud | 300921

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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