

HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry sejtek | 300921

Általános információk

Description

A HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry sejt vonal egy genetikailag módosított HeLa Kiotóból származó sejtmodell, amelyet a nukleáris dinamika és a kromatin élő sejteken belüli szerveződésének fejlett tanulmányozására fejlesztettek ki. Ez a sejt vonal két fúziós fehérjét expresszál: a lamin A-val fuzionált EGFP-t (fokozott zöld fluoreszcens fehérje) és a H2B hisztonhoz fuzionált mCherry-t (vörös fluoreszcens fehérje). Az EGFP-Lamin A fúzió kiemeli a magburkot, és lehetővé teszi a sejt ciklus előrehaladása során vagy különböző kísérleti körülmények között bekövetkező nukleáris architektúra-változások vizualizálását. Eközben a H2B-mCherry fúziós fehérje kötődik a DNS-hez, és élénk vörös fluoreszcenciával jelöli a kromatint, lehetővé téve a kromoszómális folyamatok valós idejű megfigyelését a mitózis és az interfázis során.

Ezek a sejtek felbecsülhetetlen értékűek a valós idejű képkalkító alkalmazásokhoz, beleértve a nukleáris integritás, a DNS-replikáció és a sejtek öregedésének vizsgálatát, valamint az olyan betegségek kutatását, ahol a nukleáris architektúra megzavarodott, mint például a rák és a laminopátiák. E sejt vonal kétszínű fluoreszcencia jellemzője lehetővé teszi mind a magburkot, mind a kromatin egyidejű vizualizálását, megkönnyítve a nukleáris-citoplazma kölcsönhatások és a kromatin tér-időbeli szerveződésének átfogó megértését. Ezek a képességek kritikus eszközzé teszik a molekuláris biológiai kutatások és a sejt biofizika számára, betekintést nyújtva a génexpresszió szabályozásának mechanikájába, a nukleáris szerveződésbe és a sejt ciklusba.

Organism Emberi

Tissue Cervix

Disease Karcinóma

Synonyms HeLa Kyoto EGFP-LaminA és H2B-mCherry

Jellemzők

Age 30 év

Gender Női

Ethnicity Afroamerikai

Morphology Epithelszerű, mozaikos kő alakú sejtek

Growth properties Monoréteg, tapadó

Szabályozási adatok

HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry sejtek | 300921

Citation	HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry (Cytion katalógusszám: 300921)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D62
Depositor	Az Ellenberg Labor (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Ez a HeLa Kyoto vonal EGFP-Lamin A és H2B-mCherry konstrukciókat tartalmaz, amelyek lehetővé teszik a nukleáris lamina és a kromatin két színű képalkotását. Ez a besorolás csak Németországon belül érvényes, más országokban eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok

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

A kezelése

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Seeding density	1×10^4 sejt/cm ²
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal

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

Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítjük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry sejtek | 300921**Freezing Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA**Sterility**

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

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