

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry sejtek | 300919

Általános információk

Description

A HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry sejt vonal egy HeLa Kiotóból származó in vitro modell, amelyet a kromatin dinamika és a nukleáris architektúra élő sejtekben történő valós idejű vizualizálására terveztek. Ez a sejt vonal két fluoreszcens fehérjefúziót expresszál: (megerősített zöld fluoreszcens fehérje), amely Lamin B1-gyel fuzionált, és mCherry-t (vörös fluoreszcens fehérje), amely hiszton H2B-vel fuzionált. Az EGFP és a Lamin B1 fúziója lehetővé teszi a sejtmag burkának és a nukleáris lamina megfigyelését, amelyek a sejtmag integritásának és funkcionalitásának fenntartása szempontjából kritikus struktúrák. A lamin fehérjék V. típusú intermedier filamentum fehérjék, amelyek a belső magmembrán alatti hálót alkotják, és kulcsszerepet játszanak a nukleáris stabilitásban, a kromatin szerveződésében és a génszabályozásban.

Másrészt az mCherry-taggal jelölt H2B hiszton lehetővé teszi a kromatin vizualizálását a sejtmagon belül. A hisztonok a nukleoszóma alapvető összetevői, amelyek részt vesznek a DNS kromatinba szerveződésében, így létfontosságúak a DNS-replikáció, a javítás és az átírás szempontjából. A H2B mCherry tag élénk vörös fluoreszcenciát biztosít, amely kontrasztban áll az EGFP zöld fluoreszcenciájával, lehetővé téve a nukleáris szerkezet és a kromatin egyidejű kettős képalkotását élő sejt kísérletekben. Ezt a sejt vonalat gyakran használják a nukleáris mechanikára, a mitózisra és a genom stabilitására összpontosító vizsgálatokban, dinamikus képet nyújtva olyan sejt folyamatokról, amelyeket egyébként nehéz valós időben megfigyelni.

Organism Emberi

Tissue Cervix

Disease Karcinóma

Synonyms HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 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-LaminB1/H2B-mCherry sejtek | 300919

Citation HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry (Cytion katalógusszám: 300919)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_UR41

Depositor Az Ellenberg Labor (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Ez a HeLa Kyoto vonal EGFP-Lamin B1 és H2B-mCherry konstrukciókat tartalmaz a sejtmag membrán és a kromatin szerkezetének képzéséhez. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, más országokban eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok

Protein expression EGFP-LaminB1/H2B-mCherry

Products Hiszton H2B

A kezelése

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, 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/cm²

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry sejtek | 300919**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 sejt-kölcsönhatás 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-LaminB1/H2B-mCherry sejtek | 300919

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalatat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -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 $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -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.