Product sheet

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry ląstelės | 300919

Bendra informacija

Description	HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry ląstelių linija yra iš Hela Kyoto kilęs in vitro modelis, skirtas chromatino dinamikos ir branduolio architektūros vizualizavimui realiuoju laiku gyvose ląstelėse. Ši ląstelių linija išreiškia du fluorescencinius baltymus: EGFP (sustiprintas žaliasis fluorescencinis baltymas), sujungtas su laminu B1, ir mCherry (raudonasis fluorescencinis baltymas), sujungtas su histonu H2B. EGFP sintezė su Lamin B1 leidžia stebėti branduolio apvalkalą ir branduolio plokštelę - struktūras, kurios yra labai svarbios branduolio vientisumui ir funkcionalumui palaikyti. Laminų baltymai yra V tipo tarpinių gijų baltymai, sudarantys vidinės branduolio membranos tinklelį, atliekantys pagrindinį vaidmenį branduolio stabilumo, chromatino organizavimo ir genų reguliavimo srityse. Kita vertus, su mCherry žymėtu histonu H2B galima vizualizuoti chromatiną branduolio viduje. Histonai yra pagrindiniai nukleosomos komponentai, dalyvaujantys organizuojant DNR į chromatiną, todėl jie labai svarbūs DNR replikacijai, taisymui ir transkripcijai. H2B žymė mCherry suteikia ryškią raudoną fluorescenciją, kuri kontrastuoja su EGFP žalia fluorescencija, todėl atliekant eksperimentus su gyvomis ląstelėmis vienu metu galima matyti dvigubą branduolio struktūros ir chromatino vaizdą. Ši ląstelių linija paprastai naudojama tyrimams, kuriuose daugiausia dėmesio skiriama branduolio mechanikos, mitozės ir genomo stabilumo tyrimams, nes suteikia dinamišką ląstelinių procesų, kuriuos kitaip sunku stebėti realiuoju laiku, vaizdą.
Organism	Žmogus
Tissue	Gimdos kaklelis
Disease	Karcinoma
Metastatic site	Pirminio naviko lokalizacija (gimdos kaklelis)
Applications	Branduolio lamina ir chromatino struktūra; lamin B1 dinamika; H2B chromatino vaizdinimas; dviejų spalvų gyvų ląstelių fluorescencija; branduolio mechanika; mitoze; genomo stabilumas; branduolio apvalkalo biologija
Synonyms	HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 ir H2B-mCherry

Charakteristikos

Age	30 metų
Gender	Moteris
Ethnicity	Afroamerikietis
Morphology	Į epitelį panašios ląstelės su mozaikos formos akmenukais

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry ląstelės | 300919

Cell type	Epitelio ląstelės
Growth properties	Viensluoksnis, prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry (Cytion katalogo numeris 300919)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_UR41
Depositor	Ellenbergo laboratorija (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Ši HeLa Kyoto linija turi EGFP-Lamin B1 ir H2B-mCherry konstrukcijas, skirtas branduolinės apvalkalo ir chromatino struktūros vaizdavimui. Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression	EGFP-LaminB1/H2B-mCherry
Products	Histonas H2B

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO3, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry ląstelės | 300919

Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Seeding density	1 x 10^4 ląstelės/cm^2
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Post-Thaw Recovery	Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5 x 10^4 ląstelių/cm^2 tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry ląstelės | 300919

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry ląstelės | 300919

Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.