

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry šūnas | 300919

Vispārīga informācija

Description

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry šūnu līnija ir no HeLa Kyoto atvasināts in vitro modelis, kas paredzēts hromatīna dinamikas un kodola arhitektūras vizualizēšanai reāllaikā dzīvās šūnās. Šī šūnu līnija ekspresē divas fluorescējošu proteīnu fusion: EGFP (pastiprināts zaļais fluorescējošais proteīns), kas saplūst ar lamīnu B1, un mCherry (sarkanais fluorescējošais proteīns), kas saplūst ar histonu H2B. EGFP saplūšana ar lamīnu B1 ļauj novērot kodola apvalku un kodola plāksnīti - struktūras, kas ir ļoti svarīgas kodola integritātes un funkcionalitātes saglabāšanai. Lamīna olbaltumvielas ir V tipa starposma pavadītu olbaltumvielas, kas veido tīklojumu zem iekšējās kodola membrānas, un tām ir būtiska nozīme kodola stabilitātē, hromatīna organizācijā un gēnu regulācijā.

No otras puses, ar mCherry marķēts histons H2B ļauj vizualizēt hromatīnu kodolā. Histoni ir nukleosomu pamatkomponenti, kas piedalās DNS organizēšanā hromatīnā, padarot tos par būtiskiem DNS replikācijas, labošanas un transkripcijas procesos. H2B mCherry marķējums nodrošina spilgti sarkanu fluorescenci, kas kontrastē ar EGFP zaļo fluorescenci, ļaujot vienlaicīgi divējādi attēlot kodola struktūru un hromatīnu eksperimentos ar dzīvām šūnām. Šo šūnu līniju parasti izmanto pētījumos, kas vērsti uz kodola mehāniku, mitozī un genoma stabilitāti, sniedzot dinamisku priekšstatu par šūnu procesiem, kurus citādi ir grūti novērot reālajā laikā.

Organism

Cilvēks

Tissue

Dzemes kakls

Disease

Karcinoma

Metastatic site

Primārā audzēja lokalizācija (dzemes kakls)

Applications

Kodola lamina un hromatīna organizācija; Lamin B1 dinamika; H2B hromatīna attēlveidošana; divkrāsu dzīvo šūnu fluorescences mikroskopija; kodola mehānika; mitoze; genoma stabilitāte; kodola apvalka bioloģija

Synonyms

HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 un H2B-mCherry

Raksturojums

Age

30 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Afroamerikānis

Morphology

Epitēlijveidīgas šūnas ar mozaikveida akmens formu

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry šūnas | 300919

Cell type Epitēlija šūnas

Growth properties Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

Citation HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry (Cytion kataloga numurs 300919)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_UR41

Depositor Ellenberga laboratorija (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Šī HeLa Kyoto līnija satur EGFP-Lamin B1 un H2B-mCherry konstrukcijas kodola apvalka un hromatīna organizācijas attēlošanai. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Protein expression EGFP-LaminB1/H2B-mCherry

Products Histons H2B

Darbs ar

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry šūnas | 300919

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Seeding density 1×10^4 šūnas/cm²

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Post-Thaw Recovery Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry šūnas | 300919**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry šūnas | 300919

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.