

HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry-cellen | 300921

Algemene informatie

Description

De HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry cellijn is een genetisch gemanipuleerd HeLa Kyoto afgeleid celmodel ontwikkeld om geavanceerde studies in nucleaire dynamica en chromatine organisatie in levende cellen te vergemakkelijken. Deze cellijn brengt twee fusie-eiwitten tot expressie: EGFP (versterkt groen fluorescerend eiwit) samengevoegd met Lamin A, en mCherry (een rood fluorescerend eiwit) samengevoegd met Histon H2B. De EGFP-Lamine A fusie benadrukt de nucleaire envelop en maakt de visualisatie mogelijk van veranderingen in de nucleaire architectuur tijdens de voortgang van de celcyclus of onder verschillende experimentele omstandigheden. Ondertussen bindt het H2B-mCherry fusie-eiwit aan DNA en zorgt voor een levendige rode fluorescentie die chromatine markeert, waardoor real-time observatie van chromosomale processen tijdens mitose en interfase mogelijk is.

Deze cellen zijn van onschatbare waarde voor real-time beeldvormingstoepassingen, waaronder studies naar nucleaire integriteit, DNA-replicatie en celveroudering, evenals onderzoek naar ziekten waarbij de nucleaire architectuur verstoord is, zoals kanker en laminopathieën. De tweekleurige fluorescentie-eigenschap van deze cellijn maakt gelijktijdige visualisatie van zowel de nucleaire envelop als het chromatine mogelijk, waardoor een uitgebreid begrip van kern-cytoplasmatische interacties en de spatiotemporele organisatie van chromatine mogelijk wordt. Door deze mogelijkheden is het een cruciaal hulpmiddel voor moleculair biologisch onderzoek en cellulaire biofysica, dat inzicht geeft in de mechanismen van genexpressieregulatie, nucleaire organisatie en de celcyclus.

Organism

Mens

Tissue

Baarmoederhals

Disease

Carcinoom

Synonyms

HeLa Kyoto EGFP-LaminaA en H2B-mCherry

Kenmerken

Age

30 jaar

Gender

Vrouw

Ethnicity

Afro-Amerikaan

Morphology

Epitheelachtige cellen met mozaïeksteenvorm

Growth properties

Monolaag, adherent

Regelgevende gegevens

HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry-cellen | 300921

Citation HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry (Cytion catalogusnummer 300921)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1D62

Depositor Het Ellenberg Lab (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Deze HeLa Kyoto-lijn bevat EGFP-Lamin A- en H2B-mCherry-constructen die tweekleurige beeldvorming van nucleaire lamina en chromatine mogelijk maken. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Protein expression EGFP-LamineA/H2B-mCherry

Products Histon H2B

Omgaan met

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio Een verhouding van 1:3 wordt aanbevolen

Seeding density 1×10^4 cellen/cm²

HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry-cellen | 300921**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week**Post-Thaw Recovery** Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van 5×10^4 cellen/cm² en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.**Thawing and Culturing Cells**

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, bevochtigde atmosfeer.**Flask Coating** Geen

HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry-cellen | 300921

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

HLA-allelen

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