

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry-cellen | 300919

Algemene informatie

Description

De HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry cellijn is een HeLa Kyoto afgeleid in vitro model ontworpen voor real-time visualisatie van chromatine dynamiek en nucleaire architectuur in levende cellen. Deze cellijn brengt twee fluorescerende eiwitfusies tot expressie: EGFP (verbeterd groen fluorescerend eiwit) samengevoegd met Lamin B1, en mCherry (een rood fluorescerend eiwit) samengevoegd met histon H2B. De fusie van EGFP met Lamin B1 maakt de observatie mogelijk van de nucleaire envelop en de nucleaire lamina, structuren die cruciaal zijn voor het behoud van de integriteit en functionaliteit van de kern. Lamin-eiwitten zijn type V intermediaire filamenteiwitten die een netwerk vormen onder het binnenste kernmembraan en een sleutelrol spelen in de nucleaire stabiliteit, de organisatie van het chromatine en de genregulatie.

Aan de andere kant maakt het mCherry-gemerkte histon H2B de visualisatie van chromatine in de celkern mogelijk. Histonen zijn fundamentele componenten van het nucleosoom, betrokken bij de organisatie van DNA in chromatine, waardoor ze cruciaal zijn voor DNA replicatie, reparatie en transcriptie. De mCherry-tag op H2B zorgt voor een levendige rode fluorescentie die contrasteert met de groene fluorescentie van EGFP, waardoor gelijktijdige dubbele beeldvorming van de nucleaire structuur en chromatine in live-celexperimenten mogelijk is. Deze cellijn wordt vaak gebruikt in studies die zich richten op nucleaire mechanica, mitose en genoomstabiliteit, en biedt een dynamisch beeld van cellulaire processen die anders moeilijk in realtime te observeren zijn.

Organism

Mens

Tissue

Baarmoederhals

Disease

Carcinoom

Synonyms

HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 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-LaminB1/H2B-mCherry-cellen | 300919

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

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_UR41

Depositor Het Ellenberg Lab (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Deze HeLa Kyoto-lijn bevat EGFP-Lamin B1- en H2B-mCherry-constructen voor het in beeld brengen van de kernmembraan en de chromatineorganisatie. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Protein expression EGFP-LaminB1/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 centrifugerend 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-LaminB1/H2B-mCherry-cellen | 300919**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-LaminB1/H2B-mCherry-cellen | 300919

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.