Product sheet

HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry-celler | 300921

Generell informasjon

Description	HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry-cellelinjen er en genmodifisert Hela Kyoto-cellemodell som er utviklet for å legge til rette for avanserte studier av kjernedynamikk og kromatinorganisering i levende celler. Denne cellelinjen uttrykker to fusjonsproteiner: EGFP (forsterket grønt fluorescerende protein) fusjonert med Lamin A, og mCherry (et rødt fluorescerende protein) fusjonert med Histone H2B. EGFP-Lamin A-fusjonen fremhever kjernekjernen og gjør det mulig å visualisere endringer i kjernekjernens arkitektur i løpet av cellesyklusen eller under ulike eksperimentelle forhold. Samtidig binder H2B-mCherry-fusjonsproteinet seg til DNA og gir en levende rød fluorescens som markerer kromatin, noe som muliggjør sanntidsobservasjon av kromosomale prosesser under mitose og interfase. Disse cellene er uvurderlige for sanntidsavbildning, blant annet studier av kjerneintegritet, DNA-replikasjon og cellulær aldring, samt forskning på sykdommer der kjernearkitekturen er forstyrret, for eksempel kreft og laminopatier. Den tofargede fluorescensfunksjonen i denne cellelinjen gjør det mulig å visualisere både kjernekonvolutten og kromatin samtidig, noe som gir en omfattende forståelse av interaksjoner mellom kjerne og cytoplasma og den spatiotemporale organiseringen av kromatin. Disse egenskapene gjør den til et viktig verktøy for molekylærbiologisk forskning og cellulær biofysikk, og gir innsikt i mekanismene bak regulering av genuttrykk, kjerneorganisering og cellesyklus.
Organism	Menneskelig
Tissue	Livmorhalsen
Disease	Karsinom
Synonyms	HeLa Kyoto EGFP-LaminA og H2B-mCherry

Kjennetegn

Age	30 år
Gender	Kvinne
Ethnicity	Afroamerikaner
Morphology	Epitel-lignende celler med mosaikksteinform
Growth properties	Monolag, vedheftende

Regulatoriske data

HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry-celler | 300921

Citation	HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry (Cytion katalognummer 300921)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D62
Depositor	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linjen inneholder EGFP-Lamin A- og H2B-mCherry-konstruksjoner som muliggjør tofarget avbildning av kjernelamina og kromatin. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Protein expression	EGFP-LaminA/H2B-mCherry
Products	Histon H2B

Håndtering

Culture Medium	DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO3, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:3 anbefales
Seeding density	1 x 10^4 celler/cm^2

HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry-celler | 300921

Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke
Post-Thaw Recovery	Etter tining, plasser cellene på 5 x 10^4 celler/cm^2 og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, befuktet atmosfære.
Flask Coating	Ingen

HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry-celler | 300921

Freezing Procedure	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Shipping Conditions	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Storage Conditions	For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility	Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma. For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.
HLA-alleler	**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