

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

Allmän information

Description

HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry-cellinjen är en genetiskt modifierad HeLa Kyoto-deriverad cellmodell som utvecklats för att underlätta avancerade studier av kärndynamik och kromatinorganisation i levande celler. Denna cellinje uttrycker två fusionsproteiner: EGFP (enhanced green fluorescent protein) fusionerat med Lamin A, och mCherry (ett rött fluorescerande protein) fusionerat med Histone H2B. EGFP-Lamin A-fusionen framhäver kärnhöljet och gör det möjligt att visualisera förändringar i kärnarkitekturen under cellcykelns utveckling eller under olika experimentella förhållanden. Fusionsproteinet H2B-mCherry binder samtidigt till DNA och ger en livfull röd fluorescens som markerar kromatin, vilket möjliggör observation i realtid av kromosomala processer under mitos och interfase.

Dessa celler är ovärderliga för bildbehandling i realtid, bland annat för studier av kärnans integritet, DNA-replikation och cellåldrande samt för forskning om sjukdomar där kärnans arkitektur är störd, t.ex. cancer och laminopati. Den tvåfärgade fluorescensfunktionen hos denna cellinje möjliggör samtidig visualisering av både kärnhöljet och kromatinet, vilket underlättar en omfattande förståelse av interaktioner mellan kärnan och cytoplasman och den spatiotemporal organisationen av kromatinet. Dessa egenskaper gör den till ett viktigt verktyg för molekylärbiologisk forskning och cellulär biofysik, och ger insikter i mekaniken bakom reglering av genuttryck, kärnans organisation och cellcykeln.

Organism Människan

Tissue Cervix

Disease Carcinom

Synonyms HeLa Kyoto EGFP-LaminaA och H2B-mCherry

Egenskaper

Age 30 år

Gender Kvinna

Ethnicity Afroamerikan

Morphology Epitelliknande celler med mosaikstensform

Growth properties Monolager, vidhäftande

Lagstadgade uppgifter

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

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

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1D62

Depositor Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Denna HeLa Kyoto-linje innehåller EGFP-Lamin A- och H2B-mCherry-konstruktioner som möjliggör tvåfärgsavgivning av kärnlamina och kromatin. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.

Biomolekylära data

Protein expression EGFP-LaminaA/H2B-mCherry

Products Histon H2B

Hantering

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

Supplements Komplettera mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Split ratio Ett förhållande på 1:3 rekommenderas

Seeding density 1×10^4 celler/cm²

HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry-celler | 300921**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka**Post-Thaw Recovery** Efter upptining, plattlägg cellerna med 5×10^4 celler/cm² och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 24 timmar.**Freeze medium** Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.**Thawing and Culturing Cells**

1. Bekräfta att flaskan är djupfrysad vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeskuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, befuktad atmosfär.**Flask Coating** Ingen

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

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

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