

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

Allmän information

Description

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry-cellinjen är en in vitro-modell som härrör från HeLa Kyoto och är utformad för realtidsvisualisering av kromatindynamik och kärnarkitektur i levande celler. Denna cellinje uttrycker två fluorescerande proteinfusioner: EGFP (förstärkt grönt fluorescerande protein) fusionerat med Lamin B1 och mCherry (ett rött fluorescerande protein) fusionerat med histon H2B. Fusionen av EGFP med Lamin B1 gör det möjligt att observera kärnhöljet och kärnlamina, strukturer som är avgörande för att upprätthålla kärnans integritet och funktionalitet. Laminproteiner är intermediära filamentproteiner av typ V som bildar ett nätverk under det inre kärnmembranet och spelar nyckelroller i kärnstabilitet, kromatinorganisation och genreglering.

Å andra sidan möjliggör den mCherry-märkta histonen H2B visualisering av kromatin i kärnan. Histoner är grundläggande komponenter i nukleosomen, som är involverad i organiseringen av DNA i kromatin, vilket gör dem avgörande för DNA-replikation, reparation och transkription. MCherry-taggen på H2B ger en livlig röd fluorescens som kontrasterar mot den gröna fluorescensen hos EGFP, vilket möjliggör samtidig dubbelavbildning av kärnstrukturen och kromatin i experiment med levande celler. Denna cellinje används ofta i studier som fokuserar på kärnmekanik, mitos och genomstabilitet, vilket ger en dynamisk bild av cellulära processer som annars är svåra att observera i realtid.

Organism Människan

Tissue Cervix

Disease Carcinom

Synonyms HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 och H2B-mCherry

Egenskaper

Age 30 år

Gender Kvinna

Ethnicity Afroamerikan

Morphology Epitelliknande celler med mosaikstensform

Growth properties Monolager, vidhäftande

Lagstadgade uppgifter

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

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

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR41**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Denna HeLa Kyoto-linje innehåller EGFP-Lamin B1- och H2B-mCherry-konstruktioner för avbildning av kärnmembran och kromatinorganisation. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.**Biomolekylära data****Protein expression** EGFP-LaminB1/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**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka

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

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 kryokonservationsmedium 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 djupfrys 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 flödeshuv 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-kulturkolvar; 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-LaminB1/H2B-mCherry-celler | 300919

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.