Product sheet

HK celice EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921

Splošne informacije

Description	Celična linija HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry je gensko spremenjen model celic, ki izhaja iz Hela Kyoto, razvit za lažje napredne študije jedrske dinamike in organizacije kromatina v živih celicah. Ta celična linija izraža dva fuzijska proteina: EGFP (okrepljen zeleni fluorescenčni protein), združen z laminom A, in mCherry (rdeči fluorescenčni protein), združen s histonom H2B. Fuzija EGFP-Lamin A poudarja jedrno ovojnico in omogoča vizualizacijo sprememb jedrne arhitekture med napredovanjem celičnega cikla ali pod različnimi eksperimentalnimi pogoji. Medtem se fuzijski protein H2B-mCherry veže na DNK in zagotavlja živo rdečo fluorescenco, ki označuje kromatin, kar omogoča opazovanje kromosomskih procesov v realnem času med mitozo in interfazo. Te celice so neprecenljive za aplikacije slikanja v realnem času, vključno s študijami jedrske celovitosti, replikacije DNK in celičnega staranja ter raziskavami bolezni, pri katerih je jedrska arhitektura motena, kot so rak in laminopatije. Dvobarvna fluorescenca te celične linije omogoča hkratno vizualizacijo jedrske ovojnice in kromatina, kar omogoča celovito razumevanje interakcij med jedrom in citoplazmo ter prostorsko-časovne organizacije kromatina. Zaradi takšnih zmogljivosti je ključno orodje za raziskave v molekularni biologiji in celični biofiziki, saj omogoča vpogled v mehaniko regulacije izražanja genov, jedrno organizacijo in celični cikel.
Organism	Človek
Tissue	Maternični vrat
Disease	Karcinom
Synonyms	HeLa Kyoto EGFP-LaminA in H2B-mCherry

Značilnosti

Age	30 let
Gender	Ženske
Ethnicity	Afroameričan
Morphology	Epitelnim celicam podobne celice z obliko mozaičnih kamenčkov
Growth properties	Enoslojni, adherentni

Regulativni podatki

Citation	HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry (kataloška številka Cytion 300921)

HK celice EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D62
Depositor	Laboratorij Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Ta linija HeLa Kyoto vsebuje konstrukte EGFP-Lamin A in H2B-mCherry, ki omogočajo dvo-barvno slikanje jedrske lamine in kromatina. Ta klasifikacija velja samo v Nemčiji in se lahko drugod razlikuje.

Biomolekularni podatki

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

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
Seeding density	1 x 10^4 celic/cm^2
Fluid renewal	2 do 3-krat na teden
Post-Thaw Recovery	Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5 x 10^4 cel^{ic}/cm^2 in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

HK celice EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921

Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.
Thawing and Culturing Cells	1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature. 2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje. 3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica. 4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom. 5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte. 6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavrzite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča. 7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic. 8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, vlažno ozračje.
Flask Coating	Nič
Freezing Procedure	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

HK celice EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921

Shipping Conditions	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.
Storage Conditions	Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility	Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence. Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.
Aleli HLA	**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