

HK EGFP-Lamina/H2B-mCherry Hücreleri | 300921**Genel bilgi****Description**

HK EGFP-Lamina/H2B-mCherry hücre hattı, canlı hücrelerdeki nükleer dinamikler ve kromatin organizasyonunda ileri çalışmaları kolaylaştırmak için geliştirilmiş genetik olarak tasarlanmış HeLa Kyoto türevidir. Bu hücre hattı iki füzyon proteini ifade eder: Lamin A ile kaynaşmış EGFP (gelişmiş yeşil floresan protein) ve Histon H2B ile kaynaşmış mCherry (kırmızı floresan protein). EGFP-Lamin A füzyonu nükleer zarfı vurgular ve hücre döngüsü ilerlemesi sırasında veya çeşitli deneysel koşullar altında nükleer mimari değişikliklerinin görselleştirilmesine olanak tanır. Bu arada, H2B-mCherry füzyon proteini DNA'ya bağlanır ve kromatini işaretleyen canlı bir kırmızı floresan sağlayarak mitoz ve interfaz sırasında kromozomal süreçlerin gerçek zamanlı olarak gözlemlenmesini sağlar.

Bu hücreler, nükleer bütünlük, DNA replikasyonu ve hücre yaşlanma çalışmalarının yanı sıra kanser ve laminopatiler gibi nükleer mimarinin bozulduğu hastalıklarla ilgili araştırmalar da dahil olmak üzere gerçek zamanlı görüntüleme uygulamaları için çok değerlidir. Bu hücre hattının çift renkli floresan özelliği, hem nükleer zarfın hem de kromatinin aynı anda görüntülenmesini sağlayarak nükleer-sitoplazmik etkileşimlerin ve kromatinin uzamsal-zamansal organizasyonunun kapsamlı bir şekilde anlaşılmasını kolaylaştırır. Bu tür yetenekler onu moleküler biyoloji araştırmaları ve hücre biyofizik için kritik bir araç haline getirerek gen ekspresyonu düzenlemesi, nükleer organizasyon ve hücre döngüsü mekaniği hakkında içgörüler sağlar.

Organism İnsan**Tissue** Serviks**Disease** Karsinom**Synonyms** HeLa Kyoto EGFP-LaminA ve H2B-mCherry**Özellikler****Age** 30 yıl**Gender** Kadın**Ethnicity** Afro-Amerikan**Morphology** Mozaik taş şekilli epitel benzeri hücreler**Growth properties** Tek katmanlı, yapışık**Düzenleyici Veriler**

HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry Hücreleri | 300921**Citation** HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry (Cytion katalog numarası 300921)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D62**Depositor** Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Bu HeLa Kyoto hattı, nükleer lamina ve kromatinin çift renkli görüntülemesini sağlayan EGFP-Lamin A ve H2B-mCherry yapıları içerir. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya içinde geçerlidir ve başka ülkelerde farklılık gösterebilir.**Biyomoleküler Veriler****Protein expression** EGFP-LaminaA/H2B-mCherry**Products** Histon H2B**Elleçleme****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Seeding density** 1×10^4 hücre/cm²**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez

HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry Hücreleri | 300921**Post-Thaw Recovery**

Çözüldükten sonra, hücreleri 5×10^4 hücre/cm² olarak plakaya yerleştirin ve hücrelerin dondurma işleminden kurtulmasını ve en az 24 saat boyunca yapışmasını bekleyin.

Freeze medium

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2} nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry Hücreleri | 300921

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

HLA alelleri

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