

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry Hücreleri | 300919

Genel bilgi

Description

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry hücre hattı, canlı hücrelerde kromatin dinamiklerinin ve nükleer mimarinin gerçek zamanlı görselleştirilmesi için tasarlanmış HeLa Kyoto türevi bir in vitro modeldir. Bu hücre hattı iki floresan protein füzyonu ifade eder: Lamin B1 ile kaynaşmış EGFP (gelişmiş yeşil floresan protein) ve histon H2B ile kaynaşmış mCherry (kırmızı floresan protein). EGFP'nin Lamin B1 ile füzyonu, çekirdeğin bütünlüğünü ve işlevselliğini korumak için kritik öneme sahip yapılar olan nükleer zarfın ve nükleer laminanın gözlemlenmesini sağlar. Lamin proteinleri, iç nükleer membranın altında bir ağ oluşturan, nükleer stabilite, kromatin organizasyonu ve gen düzenlemesinde önemli roller oynayan tip V ara filament proteinleridir.

Öte yandan, mCherry etiketli histon H2B, çekirdek içindeki kromatinin görselleştirilmesini sağlar. Histonlar nükleozomun temel bileşenleridir ve DNA'nın kromatin halinde düzenlenmesinde rol oynayarak DNA replikasyonu, onarımı ve transkripsiyonu için çok önemli hale gelirler. H2B üzerindeki mCherry etiketi, EGFP'nin yeşil floresanı ile kontrast oluşturan canlı bir kırmızı floresan sağlayarak canlı hücre deneylerinde nükleer yapının ve kromatinin eşzamanlı olarak çift görüntülenmesine olanak tanır. Bu hücre hattı, nükleer mekanikler, mitoz ve genom stabilitesine odaklanan çalışmalarda yaygın olarak kullanılır ve aksi takdirde gerçek zamanlı olarak gözlemlenmesi zor olan hücresel süreçlerin dinamik bir görünümünü sağlar.

Organism

İnsan

Tissue

Serviks

Disease

Karsinom

Metastatic site

Birincil tümör yeri (rahim ağzı)

Applications

Nükleer lamina ve kromatin organizasyonu; Lamin B1 dinamiği; H2B kromatin görüntüleme; çift renkli canlı hücre floresansı; nükleer mekanik; mitoz; genom stabilitesi; nükleer zar biyolojisi

Synonyms

HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 ve H2B-mCherry

Özellikler

Age

30 yıl

Gender

Kadın

Ethnicity

Afro-Amerikan

Morphology

Mozaik taş şekilli epitel benzeri hücreler

Cell type

Epitel hücreleri

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry Hücreleri | 300919

Growth properties

Tek katmanlı, yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry (Cytion katalog numarası 300919)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_UR41

Depositor

Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)

GMO Status

GMO-S1: Bu HeLa Kyoto hattı, nükleer zarf ve kromatin organizasyonunun görüntülenmesi için EGFP-Lamin B1 ve H2B-mCherry yapıları içerir. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya içinde geçerlidir ve başka ülkelerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Protein expression

EGFP-LaminB1/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.

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry Hücreleri | 300919**Seeding density** 1 x 10⁴ hücre/cm²**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**Post-Thaw Recovery** Çözüldükten sonra, hücreleri 5 x 10⁴ 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

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry Hücreleri | 300919

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.

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.