Product sheet

Клітини вишні HK EGFP-LaminB1/H2B | 300919

Загальна інформація

Description	Клітинна лінія HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry - це модель in vitro, отримана компанією Hela Kyoto і призначена для візуалізації в реальному часі динаміки хроматину та ядерної архітектури в живих клітинах. Ця клітинна лінія експресує два флуоресцентні білки: EGFP (посилений зелений флуоресцентний білок), злитий з ламіном B1, та mCherry (червоний флуоресцентний білок), злитий з гістоном H2B. Злиття EGFP з ламіном B1 дозволяє спостерігати ядерну оболонку і ядерну пластинку - структури, критичні для підтримки цілісності і функціональності ядра. Білки ламіна - це білки проміжних філаментів типу V, які утворюють сітчасту структуру, що лежить в основі внутрішньої ядерної мембрани, і відіграють ключову роль у стабільності ядра, організації хроматину та регуляції генів. З іншого боку, гістон H2B, мічений mCherry, дозволяє візуалізувати хроматин у ядрі. Гістони є фундаментальними компонентами нуклеосоми, які беруть участь в організації ДНК у хроматин, що робить їх критично важливими для реплікації, репарації та транскрипції ДНК. Мітка mCherry на H2B забезпечує яскраву червону флуоресценцію, яка контрастує із зеленою флуоресценцією EGFP, що дозволяє одночасно візуалізувати ядерну структуру та хроматин в експериментах на живих клітинах. Ця клітинна лінія широко використовується в дослідженнях ядерної механіки, мітозу та стабільності геному, забезпечуючи динамічний погляд на клітинні процеси, які інакше важко спостерігати в реальному часі.
Organism	Людина
Tissue	Шийка матки
Disease	Карцинома
Metastatic site	Локалізація первинної пухлини (шийка матки)
Applications	Ядерна ламіна та організація хроматину; динаміка ламіну B1; візуалізація хроматину H2B; двоколірна флуоресценція живих клітин; механіка ядра; мітоз; стабільність геному; біологія ядерної оболонки
Synonyms	HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 та H2B-mCherry

Характеристики

Age	30 років
Gender	Жінка
Ethnicity	Афроамериканець
Morphology	Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю

Клітини вишні HK EGFP-LaminB1/H2B | 300919

Cell type	Епітеліальні клітини
Growth properties	Одношаровий, адгезійний

Нормативні дані

Citation	HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry (номер за каталогом Cytion 300919)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_UR41
Depositor	Лабораторія Елленберга (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Ця лінія HeLa Kyoto містить конструкції EGFP-Lamin B1 та H2B-mCherry для візуалізації ядерної оболонки та організації хроматину. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Protein expression	EGFP-LaminB1/H2B-mCherry
Products	Гістон H2B

Обробка

Culture Medium	ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO3, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза

Клітини вишні HK EGFP-LaminB1/H2B | 300919

Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Seeding density	1×10^4 клітин/см2
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Post-Thaw Recovery	Після розморожування висійте клітини з щільністю 5×10^4 клітин/см2 і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини вишні HK EGFP-LaminB1/H2B | 300919

Thawing and Culturing Cells	1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування. 2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування. 3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка. 4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям. 5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи. 6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища. 7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин. 8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Flask Coating	Ні
Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини вишні HK EGFP-LaminB1/H2B | 300919

Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.