HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry

300919

GENERELLE OPLYSNINGER

Beskrivelse

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry-cellelinjen er en Hela Kyoto-afledt in vitro-model designet til realtidsvisualisering af kromatin-dynamik og kernearkitektur i levende celler. Denne cellelinje udtrykker to fluorescerende proteinfusioner: EGFP (forstærket grønt fluorescerende protein) fusioneret med Lamin B1 og mCherry (et rødt fluorescerende protein) fusioneret med histon H2B. Fusionen af EGFP med Lamin B1 gør det muligt at observere kernehylsteret og kernelaminaen, strukturer, der er afgørende for at opretholde kernens integritet og funktionalitet. Lamin-proteiner er type V mellemliggende filamentproteiner, der danner et net under den indre kernemembran og spiller nøgleroller i nuklear stabilitet, kromatinorganisation og genregulering.
På den anden side gør den mCherry-mærkede histon H2B det muligt at visualisere kromatin i kernen. Histoner er grundlæggende komponenter i nukleosomet, der er involveret i organiseringen af DNA i kromatin, hvilket gør dem afgørende for DNA-replikation, -reparation og -transkription. MCherry-tagget på H2B giver en levende rød fluorescens, der står i kontrast til den grønne fluorescens af EGFP, hvilket giver mulighed for samtidig dobbeltafbildning af kernestrukturen og kromatin i eksperimenter med levende celler. Denne cellelinje bruges ofte i undersøgelser med fokus på kernemekanik, mitose og genomstabilitet, hvilket giver et dynamisk billede af cellulære processer, som ellers er vanskelige at observere i realtid.

Væv	Livmoderhalsen
Sygdom	Karcinom
Metastasested	Primærtumorens placering (livmoderhalsen)

Anvendelser

Kernelamina og kromatinorganisation; Lamin B1-dynamik; H2B-kromatinavbildning; tofarvet fluorescens i levende celler; kernemekanik; mitose; genomstabilitet; kernehindens biologi

Synonymer

- HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 and H2B-mCherry

KLASSIFICERING

Organisme	Menneske
Køn	Kvinde
Vækstegenskaber	Tilhænger
GMO-status	GMO-S1

Oplysninger om GMO-status

GMO-S1: This HeLa Kyoto line contains EGFP-Lamin B1 and H2B-mCherry constructs for imaging nuclear envelope and chromatin organization. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Biosikkerhedsniveau	1

EGENSKABER

Morfologi	Epithel-lignende celler med mosaikstenform
Celletype	Epitheliale celler

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

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

NCBI-skattenummer	9606
Cellosaurus	CVCL_UR41
Indskyder	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

UDTRYK OG MODTAGELIGHED

Proteinekspression

EGFP-LaminB1/H2B-mCherry

Produkter

Histon H2B

HÅNDTERING OG OPDRÆT

Næringsmedium

DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Inkubationsatmosfære	37°C, 5%CO2, befugtet atmosfære.

Kosttilskud

Suppler mediet med 10% FBS

Dissociationsreagens	Accutase

Oddyrkning

Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Såtæthed	1 x 10^4 celler/cm^2
Væskeudskiftning	2 til 3 gange om ugen
Genopretning efter optøning	Efter optøning skal cellerne udplades med 5 x 10^4 celler/cm^2, og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.

Optøning og dyrkning

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KVALITETSKONTROL OG KRYOPRÆSERVERING

Sterilitet

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

Frysemedium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Opbevaringsbetingelser

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Leveringsbetingelser

Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

DONOR

Donorens alder	30 år
Etnisk tilhørsforhold	Afroamerikaner

JURIDISKE FORHOLD OG SIKKERHED

Sikkerhedsforanstaltninger

Når man planlægger at opbevare et kryovæske i flydende nitrogen med henblik på fremtidig optøning, er det obligatorisk at overholde strenge sikkerhedsforanstaltninger. Passende beskyttelseshandsker og -tøj er afgørende, og der skal bruges ansigtsmaske eller sikkerhedsbriller under overførslen af frosne prøver til eller fra tanken med flydende nitrogen. Dette er for at mindske risikoen for skader fra potentielle kryovæskeeksplosioner ved fjernelse, som kan resultere i projektion af skarpe fragmenter.

Garanti

Hos Cytion står vi inde for vores produkters kvalitet og levedygtighed.
Vi garanterer, at vores celler vil være levedygtige ved kulturens start i 60 dage efter afsendelse fra vores faciliteter.
Vi sikrer, at alle materialer er i overensstemmelse med de specifikationer, der er beskrevet i analysecertifikatet og/eller produktarket
For alle detaljer henvises til vores <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Der gælder aftaler med tredjeparter	Yes

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB