HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry

300921

BENDRA INFORMACIJA

Aprašymas

HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry ląstelių linija yra genetiškai modifikuotas Hela Kyoto ląstelių modelis, sukurtas siekiant palengvinti pažangius branduolio dinamikos ir chromatino organizavimo gyvose ląstelėse tyrimus. Šioje ląstelių linijoje ekspresuojami du sintezės baltymai: EGFP (sustiprintas žalias fluorescencinis baltymas), sujungtas su laminu A, ir mCherry (raudonas fluorescencinis baltymas), sujungtas su histonu H2B. EGFP ir lamino A sintezė išryškina branduolio apvalkalą ir leidžia vizualizuoti branduolio architektūros pokyčius vykstant ląstelių ciklui arba esant įvairioms eksperimentinėms sąlygoms. Tuo tarpu H2B-mCherry sintezės baltymas jungiasi su DNR ir suteikia ryškią raudoną fluorescenciją, žyminčią chromatiną, todėl realiuoju laiku galima stebėti chromosominius procesus mitozės ir interfazės metu.
Šios ląstelės yra neįkainojamos realiuoju laiku atliekant branduolio vientisumo, DNR replikacijos ir ląstelių senėjimo tyrimus, taip pat tiriant ligas, kurių branduolio architektūra yra sutrikusi, pavyzdžiui, vėžį ir laminopatijas. Dviejų spalvų fluorescencija šioje ląstelių linijoje leidžia vienu metu vizualizuoti ir branduolio apvalkalą, ir chromatiną, taip palengvinant išsamų branduolio ir citoplazmos sąveikos bei chromatino erdvinės ir laikinės organizacijos supratimą. Dėl tokių galimybių ši linija yra labai svarbi priemonė molekulinės biologijos tyrimams ir ląstelių biofizikai, leidžianti suprasti genų raiškos reguliavimo, branduolio organizacijos ir ląstelių ciklo mechaniką.

Audinys	Gimdos kaklelis
Liga	Karcinoma

Sinonimai

- HeLa Kyoto EGFP-LaminA and H2B-mCherry

KLASIFIKACIJA

Organizmas	Žmogus
Seksas	Moteris
Augimo savybės	Prisijungęs
GMO statusas	GMO-S1

Išsami informacija apie GMO statusą

GMO-S1: This HeLa Kyoto line contains EGFP-Lamin A and H2B-mCherry constructs enabling dual-color imaging of nuclear lamina and chromatin. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Biologinio saugumo lygis	1

CHARAKTERISTIKOS

Morfologija	Į epitelį panašios ląstelės su mozaikos formos akmenukais

IDENTIFIKATORIAI

Nuoroda

HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry (Cytion katalogo numeris 300921)

NCBI mokesčių identifikavimo kodas	9606
Cellosaurus	CVCL_1D62

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

Indėlininkas	Ellenbergo laboratorija (EMBL)

IŠRAIŠKA IR JAUTRUMAS

Baltojų baltymų ekspresija

EGFP-LaminA/H2B-mCherry

Produktai

Histonas H2B

LAIKYMAS IR AUGINIMAS

Maitinamoji terpė

DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO3, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

Inkubacijos aplinka	37 °C, 5 %CO2, drėkintoje atmosferoje.

Maisto papildai

Papildykite terpę 10 % FBS

Disociacijos reagentas	Accutase

Subkultūrinis auginimas

Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Sėjos tankis	1 x 10^4 ląstelės/cm^2
Skysčių atnaujinimas	2-3 kartus per savaitę
Atkūrimas po atšilimo	Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5 x 10^4 ląstelių/cm^2 tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

Atšildymas ir auginimas

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.

KOKYBĖS KONTROLĖ IR KRIOKONSERVAVIMAS

Sterilumas

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.
Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

Šaldymo terpė	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Laikymo sąlygos

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Pristatymo sąlygos

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

DONORAS

Donoro amžius	30 metų
Etninė priklausomybė	Afroamerikietis

TEISINIAI IR SAUGOS KLAUSIMAI

Saugos priemonės

Planuojant saugoti kriovaistinę skystame azote, kad ateityje ją būtų galima atšildyti, būtina laikytis griežtų saugos priemonių. Būtina mūvėti tinkamas apsaugines pirštines ir drabužius, o perkeliant užšaldytus mėginius į skystojo azoto talpyklą arba iš jos būtina naudoti veido kaukę arba apsauginius akinius. Taip siekiama sumažinti sužeidimų riziką dėl galimo kriokomponentų sprogimo išėmimo metu, kai gali išsiveržti aštrūs fragmentai.

Garantija

" Cytion" garantuoja savo produktų kokybę ir gyvybingumą.
Garantuojame, kad mūsų ląstelės bus gyvybingos kultūrų auginimo pradžioje 60 dienų po išsiuntimo iš mūsų gamyklos.
Užtikriname, kad visos medžiagos atitinka analizės sertifikate ir (arba) gaminio lape aprašytas specifikacijas
Išsamią informaciją rasite mūsų <a href=""/Kas mes esame/garantijos/" hreflang=""x-default"">Garantijos pareiškime

Taikomos susitarimai su trečiosiomis šalimis	Yes