HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry

300921

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

Linia komórkowa HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry jest genetycznie zmodyfikowanym modelem komórkowym pochodzącym z Hela Kyoto, opracowanym w celu ułatwienia zaawansowanych badań nad dynamiką jądrową i organizacją chromatyny w żywych komórkach. Ta linia komórkowa wyraża dwa białka fuzyjne: EGFP (wzmocnione zielone białko fluorescencyjne) połączone z laminą A i mCherry (czerwone białko fluorescencyjne) połączone z histonem H2B. Fuzja EGFP z laminą A podkreśla otoczkę jądrową i pozwala na wizualizację zmian architektury jądrowej podczas progresji cyklu komórkowego lub w różnych warunkach eksperymentalnych. Tymczasem białko fuzyjne H2B-mCherry wiąże się z DNA i zapewnia żywą czerwoną fluorescencję, która oznacza chromatynę, umożliwiając obserwację w czasie rzeczywistym procesów chromosomalnych podczas mitozy i interfazy.
Komórki te są nieocenione w zastosowaniach obrazowania w czasie rzeczywistym, w tym w badaniach nad integralnością jądrową, replikacją DNA i starzeniem się komórek, a także w badaniach nad chorobami, w których architektura jądrowa jest zaburzona, takimi jak rak i laminopatie. Dwukolorowa fluorescencja tej linii komórkowej pozwala na jednoczesną wizualizację zarówno otoczki jądrowej, jak i chromatyny, ułatwiając kompleksowe zrozumienie interakcji jądrowo-cytoplazmatycznych i przestrzenno-czasowej organizacji chromatyny. Takie możliwości sprawiają, że jest to krytyczne narzędzie do badań biologii molekularnej i biofizyki komórkowej, zapewniające wgląd w mechanikę regulacji ekspresji genów, organizację jądrową i cykl komórkowy.

Chusteczka	Szyjka macicy
Choroba	Rak

Synonimy

- HeLa Kyoto EGFP-LaminA and H2B-mCherry

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Seks	Kobieta
Właściwości związane ze wzrostem	Zwolennik
Status GMO	GMO-S1

Szczegółowe informacje dotyczące statusu GMO

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.

Poziom bezpieczeństwa biologicznego	1

CECHY CHARAKTERYSTYCZNE

Morfologia	Komórki podobne do nabłonka o mozaikowym kształcie kamienia

IDENTYFIKATORY

Źródło

HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry (numer katalogowy Cytion 300921)

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	9606

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

Cellosaurus	CVCL_1D62
Wkładca	Laboratorium Ellenberg (EMBL)

EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

Ekspresja białek

EGFP-LaminA/H2B-mCherry

Produkty

Histon H2B

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.

Suplementy

Uzupełnić podłoże 10% FBS

Odczynnik dysocjacyjny	Accutase

Hodowla komórek w subkulturze

Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Gęstość wysiewu	1 x 10^4 komórek/cm^2
Odnawianie płynów	2 do 3 razy w tygodniu
Powrót do stanu sprzed rozmrożenia	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5 x 10^4 komórek/cm^2 i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

Rozmrażanie i hodowla

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.

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.
Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Pożywka do zamrażania	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C.
Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

DARCZYŃCA

Wiek dawcy	30 lat
Pochodzenie etniczne	Afroamerykanin

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Obowiązują umowy z podmiotami zewnętrznymi	Yes