**Product sheet**

# Клетки HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921

## Обща информация

| | |
|---|---|
| **Description** | Клетъчната линия HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry е генетично модифициран клетъчен модел, производен на Hela Kyoto, разработен за улесняване на напреднали изследвания на ядрената динамика и организацията на хроматина в живи клетки. Тази клетъчна линия експресира два синтетични протеина: EGFP (подобрен зелен флуоресцентен протеин), слят с Ламин A, и mCherry (червен флуоресцентен протеин), слят с Хистон H2B. Сливането на EGFP и Ламин A подчертава ядрената обвивка и позволява да се визуализират промените в ядрената архитектура по време на развитието на клетъчния цикъл или при различни експериментални условия. В същото време фюжън протеинът H2B-mCherry се свързва с ДНК и осигурява ярка червена флуоресценция, която маркира хроматина, позволявайки наблюдение в реално време на хромозомните процеси по време на митоза и интерфаза.<br><br>Тези клетки са безценни за приложения за визуализация в реално време, включително за изследвания на ядрената цялост, репликацията на ДНК и клетъчното стареене, както и за изследвания на заболявания, при които ядрената архитектура е нарушена, като рак и ламинопатии. Двуцветната флуоресценция на тази клетъчна линия позволява едновременна визуализация на ядрената обвивка и хроматина, което улеснява цялостното разбиране на ядрено-цитоплазмените взаимодействия и пространствено-времевата организация на хроматина. Подобни възможности я превръщат в изключително важен инструмент за изследвания в областта на молекулярната биология и клетъчната биофизика, осигуряващ поглед върху механиката на регулацията на генната експресия, ядрената организация и клетъчния цикъл. |
| **Organism** | Човек |
| **Tissue** | Цервикс |
| **Disease** | Карцином |
| **Synonyms** | HeLa Kyoto EGFP-LaminA и H2B-mCherry |

## Характеристики

| | |
|---|---|
| **Age** | 30 години |
| **Gender** | Жена |
| **Ethnicity** | Афроамериканец |
| **Morphology** | Епителиални клетки с форма на мозаечно камъче |
| **Growth properties** | Монослой, прилепнал |

# Клетки HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921

## Регулаторни данни

| | |
|---|---|
| **Citation** | HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry (каталожен номер 300921 на Cytion) |
| **Biosafety level** | 1 |
| **NCBI_TaxID** | 9606 |
| **CellosaurusAccession** | CVCL_1D62 |
| **Depositor** | Лабораторията на Елънбърг (EMBL) |
| **GMO Status** | GMO-S1: Тази линия HeLa Kyoto съдържа конструкции EGFP-Lamin A и H2B-mCherry, които позволяват двуцветно изображение на ядрената ламина и хроматина. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни. |

## Биомолекулярни данни

| | |
|---|---|
| **Protein expression** | EGFP-LaminA/H2B-mCherry |
| **Products** | Хистон H2B |

## Работа с

| | |
|---|---|
| **Culture Medium** | DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a) |
| **Supplements** | Допълнете средата с 10% FBS |
| **Dissociation Reagent** | Accutase |
| **Subculturing** | Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда. |

## Клетки HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921

| | |
|---|---|
| **Seeding density** | 1 x $10^4$ клетки/$cm^2$ |
| **Fluid renewal** | 2 до 3 пъти седмично |
| **Post-Thaw Recovery** | След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5 x $10^4$ клетки/$cm^2$ и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа. |
| **Freeze medium** | Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес. |

**Thawing and Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

## Клетки HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921

| | |
|---|---|
| **Incubation Atmosphere** | 37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера. |
| **Flask Coating** | За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**. |
| **Freezing Procedure** | Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение. |
| **Shipping Conditions** | Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение. |
| **Storage Conditions** | За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот. |

## Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

| | |
|---|---|
| **Sterility** | Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.<br><br>За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки. |
| **HLA алели** | **A***: '68:02:01<br>**B***: '15:03:01<br>**C***: '12:03:01<br>**DRB1***: '01:02:01<br>**DQA1***: '01:01:02<br>**DQB1***: '05:01:01<br>**DPB1***: '01:01:01<br>**E**: '01:03:02 |