

## HK EGFP-Lamina/H2B-mCherry-celler | 300921

## Generel information

## Description

HK EGFP-Lamina/H2B-mCherry-cellelinjen er en genetisk manipuleret HeLa Kyoto-afledt cellemodel, der er udviklet til at lette avancerede undersøgelser af kernedynamik og kromatinorganisation i levende celler. Denne cellelinje udtrykker to fusionsproteiner: EGFP (forstærket grønt fluorescerende protein) fusioneret med Lamin A og mCherry (et rødt fluorescerende protein) fusioneret med Histone H2B. EGFP-Lamin A-fusionen fremhæver kernekappen og gør det muligt at visualisere ændringer i kernearkitekturen under cellecyklusprogression eller under forskellige eksperimentelle forhold. I mellemtiden binder H2B-mCherry-fusionsproteinet til DNA og giver en levende rød fluorescens, der markerer kromatin, hvilket muliggør observation i realtid af kromosomale processer under mitose og interfase.

Disse celler er uvurderlige i forbindelse med billeddannelse i realtid, herunder undersøgelser af nuklear integritet, DNA-replikation og cellulær aldring samt forskning i sygdomme, hvor den nukleare arkitektur er forstyrret, såsom kræft og laminopatier. Den tofarvede fluorescensfunktion i denne cellelinje giver mulighed for samtidig visualisering af både kernekappen og kromatin, hvilket letter en omfattende forståelse af interaktioner mellem kerne og cytoplasma og den spatiotemporale organisering af kromatin. Disse egenskaber gør den til et vigtigt værktøj for molekylærbiologisk forskning og cellulær biofysik, der giver indsigt i mekanikken bag regulering af genekspression, nuklear organisering og cellecyklus.

## Organism

Menneske

## Tissue

Livmoderhalsen

## Disease

Karcinom

## Synonyms

HeLa Kyoto EGFP-LaminA og H2B-mCherry

## Karakteristika

## Age

30 år

## Gender

Kvinde

## Ethnicity

Afroamerikaner

## Morphology

Epitel-lignende celler med mosaikstenform

## Growth properties

Monolag, klæbende

## Regulatoriske data

## HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry-celler | 300921

**Citation** HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry (Cytion katalognummer 300921)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1D62

**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

**GMO Status** GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linje indeholder EGFP-Lamin A- og H2B-mCherry-konstruktioner, der muliggør dobbeltfarveafbildning af nuklear lamina og kromatin. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.

## Biomolekylære data

**Protein expression** EGFP-LaminaA/H2B-mCherry

**Products** Histon H2B

## Håndtering

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** 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, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen

**HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry-celler | 300921****Post-Thaw Recovery**

Efter optøning skal cellerne udplades med  $5 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup>, og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.

**Freeze medium**

Som kryopræservesmedium 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.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryoviolet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

**Incubation Atmosphere**

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, befugtet atmosfære.

**Flask Coating**

Ingen

## HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry-celler | 300921

### Freezing Procedure

Kryopræservede 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.

### Shipping Conditions

Kryopræservede 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.

### Storage Conditions

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.

## Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

### Sterility

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 cellekulturene daglige visuelle inspektioner.

### HLA-alleler

**A\***: '68:02:01  
**B\***: '15:03:01  
**C\***: '12:03:01  
**DRB1\***: '01:02:01  
**DQA1\***: '01:01:02  
**DQB1\***: '05:01:01  
**DPB1\***: '01:01:01  
**E**: '01:03:02