

## Κύτταρα HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

## Γενικές πληροφορίες

## Description

Η κυτταρική σειρά HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry είναι ένα in vitro μοντέλο HeLa Kyoto που έχει σχεδιαστεί για την οπτικοποίηση της δυναμικής της χρωματίνης και της πυρηνικής αρχιτεκτονικής σε ζωντανά κύτταρα σε πραγματικό χρόνο. Αυτή η κυτταρική σειρά εκφράζει δύο συγχωνεύσεις φθορίζουσας πρωτεΐνης: Και mCherry (κόκκινη φθορίζουσα πρωτεΐνη), η οποία είναι συγχωνευμένη με την ιστόνη H2B. Η σύντηξη της EGFP με το Lamin B1 επιτρέπει την παρατήρηση του πυρηνικού περιβλήματος και του πυρηνικού ελάσματος, δομές κρίσιμες για τη διατήρηση της ακεραιότητας και της λειτουργικότητας του πυρήνα. Οι πρωτεΐνες Lamin είναι πρωτεΐνες ενδιάμεσων νηματίων τύπου V που σχηματίζουν ένα πλέγμα που βρίσκεται κάτω από την εσωτερική πυρηνική μεμβράνη, διαδραματίζοντας βασικούς ρόλους στην πυρηνική σταθερότητα, την οργάνωση της χρωματίνης και τη γονιδιακή ρύθμιση.

Από την άλλη πλευρά, η σημασμένη με mCherry ιστόνη H2B επιτρέπει την οπτικοποίηση της χρωματίνης εντός του πυρήνα. Οι ιστόνες είναι θεμελιώδη συστατικά του νουκλεοσώματος, που εμπλέκονται στην οργάνωση του DNA στη χρωματίνη, καθιστώντας τις ζωτικής σημασίας για την αντιγραφή, την επιδιόρθωση και τη μεταγραφή του DNA. Η ετικέτα mCherry στην H2B παρέχει έναν ζωηρό κόκκινο φθορισμό που έρχεται σε αντίθεση με τον πράσινο φθορισμό της EGFP, επιτρέποντας την ταυτόχρονη διπλή απεικόνιση της πυρηνικής δομής και της χρωματίνης σε πειράματα με ζωντανά κύτταρα. Αυτή η κυτταρική σειρά χρησιμοποιείται συνήθως σε μελέτες που επικεντρώνονται στην πυρηνική μηχανική, τη μίτωση και τη σταθερότητα του γονιδιώματος, παρέχοντας μια δυναμική εικόνα των κυτταρικών διεργασιών που διαφορετικά είναι δύσκολο να παρατηρηθούν σε πραγματικό χρόνο.

**Organism** Ανθρώπινο

**Tissue** Τράχηλος μήτρας

**Disease** Καρκίνωμα

**Synonyms** HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 και H2B-mCherry

## Χαρακτηριστικά

**Age** 30 χρόνια

**Gender** Γυναίκα

**Ethnicity** Αφροαμερικανός

**Morphology** Επιθηλιακά κύτταρα με ψηφιδωτό σχήμα πέτρας

**Growth properties** Μονοστρωματική, προσκολλημένη

## Κύτταρα HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

## Ρυθμιστικά δεδομένα

<b>Citation</b>	HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry (αριθμός καταλόγου Cytion 300919)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_UR41
<b>Depositor</b>	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Αυτή η σειρά HeLa Kyoto περιέχει κατασκευάσματα EGFP-Lamin B1 και H2B-mCherry για την απεικόνιση του πυρηνικού περιβλήματος και της οργάνωσης της χρωματίνης. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

## Βιομοριακά δεδομένα

<b>Protein expression</b>	EGFP-LaminB1/H2B-mCherry
<b>Products</b>	Ιστόνη H2B

## Χειρισμός

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM πυρροβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

**Κύτταρα HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919****Seeding density** 1 x 10<sup>4</sup> κύτταρα/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα**Post-Thaw Recovery** Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5 x 10<sup>4</sup> κύτταρα/cm<sup>2</sup> και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.**Freeze medium** Ως μέσο κρυσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυσυντήρηση.**Thawing and Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

## Κύτταρα HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

### Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

### Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

### Freezing Procedure

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Shipping Conditions

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

## Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

### Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.