

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

### Yleisiä tietoja

#### Description

HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry-solulinja on geneettisesti muunnettu HeLa Kyoto -solumalli, joka on kehitetty helpottamaan ydindynamiikan ja kromatiinin järjestäytymisen kehittyneitä tutkimuksia elävissä soluissa. Tämä solulinja ilmentää kahta fuusioproteiinia: EGFP (tehostettu vihreää fluoresoiva proteiini), joka on fuusioitu lamiini A:n kanssa, ja mCherry (punainen fluoresoiva proteiini), joka on fuusioitu histoni H2B:n kanssa. EGFP-Lamin A-fuusio korostaa ydinkuorta ja mahdollistaa ydinarkkitehtuurin muutosten visualisoinnin solusyklin etenemisen aikana tai erilaisissa koeolosuhteissa. H2B-mCherry-fuusio proteiini puolestaan sitoutuu DNA:han ja tuottaa eloisaa punaista fluoresenssia, joka merkitsee kromatiinia, mikä mahdollistaa kromosomiprozessien reaaliaikaisen tarkkailun mitoosin ja interfaasin aikana.

Nämä solut ovat korvaamattomia reaaliaikaisia kuvantamissovelluksia varten, mukaan lukien tutkimukset, jotka koskevat ydinkudoksen eheyttä, DNA:n replikaatiota ja solujen vanhenemista, sekä sellaisten sairauksien tutkiminen, joissa ydinarkkitehtuuri on häiriintynyt, kuten syöpä ja laminoomat. Tämän solulinjan kaksivärinen fluoresenssiominaisuus mahdollistaa sekä ydinkuoren että kromatiinin samanaikaisen visualisoinnin, mikä helpottaa ydinsolujen ja sytoplasman vuorovaikutuksen ja kromatiinin tila-ajallisen järjestäytymisen kokonaisvaltaista ymmärtämistä. Tällaiset ominaisuudet tekevät siitä kriittisen työkalun molekyylibiologiseen tutkimukseen ja solubiofysiikkaan, sillä ne tarjoavat tietoa geeniekspression säätelyn mekaniikasta, ydinorganisaatiosta ja solusyklistä.

**Organism** Ihminen

**Tissue** Kohdunkaula

**Disease** Syöpä

**Synonyms** HeLa Kioto EGFP-LaminA ja H2B-mCherry

### Ominaisuudet

**Age** 30 vuotta

**Gender** Nainen

**Ethnicity** Afroamerikkalainen

**Morphology** Epiteelin kaltaiset solut, joilla on mosaiikkimaisen kiven muotoinen rakenne

**Growth properties** Yksikerroksinen, tarttuva

### Säätelytiedot

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

**Citation** HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry (Cytionin luettelonumero 300921)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1D62

**Depositor** Ellenbergin laboratorio (EMBL)

**GMO Status** GMO-S1: Tämä HeLa Kyoto -linja sisältää EGFP-Lamin A- ja H2B-mCherry-rakenteita, jotka mahdollistavat ydinlaminan ja kromatiinin kaksivärisen kuvantamisen. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.

## Biomolekyyli tiedot

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

**Products** Histoni H2B

## Käsittely

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

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

**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa

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

**Post-Thaw Recovery** Sulattamisen jälkeen levitä solut  $5 \times 10^4$  solua/cm<sup>2</sup> ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

**Freeze medium** Kryosäilytysmediaana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, kostutettu ilmakehä.

**Flask Coating** Ei mitään

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

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

### HLA-alleelit

**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