

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

## Általános információk

## Description

A HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry sejtvonal egy HeLa Kiotóból származó in vitro modell, amelyet a kromatin dinamika és a nukleáris architektúra élő sejtekben történő valós idejű vizualizálására terveztek. Ez a sejtvonal két fluoreszcens fehérjefúziót expresszál: (megerősített zöld fluoreszcens fehérje), amely Lamin B1-gyel fuzionált, és mCherry-t (vörös fluoreszcens fehérje), amely hiszton H2B-vel fuzionált. Az EGFP és a Lamin B1 fúziója lehetővé teszi a sejtmag burkának és a nukleáris lamina megfigyelését, amelyek a sejtmag integritásának és funkcionalitásának fenntartása szempontjából kritikus struktúrák. A lamin fehérjék V. típusú intermedier filamentum fehérjék, amelyek a belső magmembrán alatti hálót alkotják, és kulcsszerepet játszanak a nukleáris stabilitásban, a kromatin szerveződésében és a génszabályozásban.

Másrészt az mCherry-taggal jelölt H2B hiszton lehetővé teszi a kromatin vizualizálását a sejtmagon belül. A hisztonok a nukleoszóma alapvető összetevői, amelyek részt vesznek a DNS kromatinba szerveződésében, így létfontosságúak a DNS-replikáció, a javítás és az átírás szempontjából. A H2B mCherry tag élénk vörös fluoreszcenciát biztosít, amely kontrasztban áll az EGFP zöld fluoreszcenciájával, lehetővé téve a nukleáris szerkezet és a kromatin egyidejű kétpalkotását élő sejt kísérletekben. Ezt a sejtvonalat gyakran használják a nukleáris mechanikára, a mitózisra és a genom stabilitására összpontosító vizsgálatokban, dinamikus képet nyújtva olyan sejt folyamatokról, amelyeket egyébként nehéz valós időben megfigyelni.

## Organism

Emberi

## Tissue

Cervix

## Disease

Karcinóma

## Metastatic site

Az elsődleges daganat helye (méhnyak)

## Applications

A maglamina és a kromatin szerveződése; a Lamin B1 dinamikája; H2B-kromatin-kétpalkotás; kétszínű élősejt-fluoreszcencia; magmechanika; mitózis; genomstabilitás; magmembrán-biológia

## Synonyms

HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 és H2B-mCherry

## Jellemzők

## Age

30 év

## Gender

Női

## Ethnicity

Afroamerikai

## Morphology

Epithelszerű, mozaikos kő alakú sejtek

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

**Cell type** Epithel sejtek**Growth properties** Monoréteg, tapadó**Szabályozási adatok****Citation** HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry (Cytion katalógusszám: 300919)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_UR41**Depositor** Az Ellenberg Labor (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ez a HeLa Kyoto vonal EGFP-Lamin B1 és H2B-mCherry konstrukciókat tartalmaz a sejtmag membrán és a kromatin szerkezetének képzéséhez. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, más országokban eltérő lehet.**Biomolekuláris adatok****Protein expression** EGFP-LaminB1/H2B-mCherry**Products** Hisztón H2B**A kezelése****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase

**HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry sejtek | 300919**

**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

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

**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal

**Post-Thaw Recovery** Felolvasztás után helyezze a sejteket  $5 \times 10^4$  sejt/cm<sup>2</sup> sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.

**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

**HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry sejtek | 300919****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ °C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ °C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ °C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

**Flask Coating**

Nincs

**Freezing  
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping  
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

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

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.