

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

## Generell informasjon

## Description

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry-cellelinjen er en HeLa Kyoto-avledet in vitro-modell som er utviklet for sanntidsvisualisering av kromatindynamikk og kjernearkitektur i levende celler. Denne cellelinjen uttrykker to fluorescerende proteinfusjoner: EGFP (forsterket grønt fluorescerende protein) fusjonert med Lamin B1, og mCherry (et rødt fluorescerende protein) fusjonert med histon H2B. Fusjonen av EGFP med Lamin B1 gjør det mulig å observere kjernekonvolutter og kjernelaminaen, strukturer som er avgjørende for å opprettholde integriteten og funksjonaliteten til kjernen. Lamin-proteiner er type V intermediære filamentproteiner som danner et nettverk under den indre kjernemembranen, og som spiller en nøkkelrolle i kjernestabilitet, kromatinorganisering og genregulering.

På den annen side gjør det mCherry-merkede histonet H2B det mulig å visualisere kromatin inne i kjernen. Histoner er grunnleggende komponenter i nukleosomet, som er involvert i organiseringen av DNA i kromatin, noe som gjør dem avgjørende for DNA-replikasjon, -reparasjon og -transkripsjon. MCherry-taggen på H2B gir en levende rød fluorescens som står i kontrast til den grønne fluorescensen til EGFP, noe som gjør det mulig å avbilde både kjernestrukturen og kromatin i levende celleeksperimenter. Denne cellelinjen brukes ofte i studier som fokuserer på kjernemekanikk, mitose og genomstabilitet, og gir et dynamisk bilde av cellulære prosesser som det ellers er vanskelig å observere i sanntid.

## Organism

Menneskelig

## Tissue

Livmorhalsen

## Disease

Karsinom

## Synonyms

HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 og H2B-mCherry

## Kjennetegn

## Age

30 år

## Gender

Kvinne

## Ethnicity

Afroamerikaner

## Morphology

Epitel-lignende celler med mosaikksteinform

## Growth properties

Monolag, vedheftende

## Regulatoriske data

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

**Citation** HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry (Cytion katalognummer 300919)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_UR41

**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

**GMO Status** GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linjen inneholder EGFP-Lamin B1- og H2B-mCherry-konstruksjoner for avbildning av kjernenes membran og kromatinorganiseringen. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

## Biomolekylære data

**Protein expression** EGFP-LaminB1/H2B-mCherry

**Products** Histon H2B

## Håndtering

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

**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

**Split ratio** Et forhold på 1:3 anbefales

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

**HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry-celler | 300919****Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Post-Thaw Recovery** Etter tining, plasser cellene på  $5 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup> og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.**Thawing and Culturing Cells**

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkningsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, befuktet atmosfære.**Flask Coating** Ingen

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

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.