

Bunky HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry je geneticky upravený bunkový model odvodený od HeLa Kyoto, ktorý bol vyvinutý s cieľom uľahčiť pokročilé štúdie jadrovej dynamiky a organizácie chromatinu v živých bunkách. Táto bunková línia exprimuje dva fúzne proteíny: EGFP (rozšírený zelený fluorescenčný proteín) fúzovaný s laminom A a mCherry (červený fluorescenčný proteín) fúzovaný s histónom H2B. Fúzia EGFP-Lamin A zvyrazňuje jadrový obal a umožňuje vizualizovať zmeny jadrovej architektúry počas vývoja bunkového cyklu alebo za rôznych experimentálnych podmienok. Medzitým sa fúzny proteín H2B-mCherry viaže na DNA a poskytuje žiarivú červenú fluorescenciu, ktorá označuje chromatin, čo umožňuje v reálnom čase sledovať chromozomálne procesy počas mitózy a interfázy.

Tieto bunky sú neoceniteľné pre aplikácie zobrazovania v reálnom čase vrátane štúdií jadrovej integrity, replikácie DNA a starnutia buniek, ako aj pre výskum ochorení, pri ktorých je narušená jadrová architektúra, ako je rakovina a laminopatie. Dvojfarebná fluorescencia tejto bunkovej línie umožňuje súčasnú vizualizáciu jadrového obalu aj chromatinu, čo uľahčuje komplexné pochopenie jadrovo-cytoplazmatických interakcií a časopriestorovej organizácie chromatinu. Vďaka týmto možnostiam je to rozhodujúci nástroj pre výskum v oblasti molekulárnej biológie a bunkovej biofyziky, ktorý poskytuje pohľad na mechaniku regulácie génovej expresie, jadrovej organizácie a bunkového cyklu.

Organism Ľudské**Tissue** Cervix**Disease** Karcinóm**Synonyms** HeLa Kyoto EGFP-LaminA a H2B-mCherry**Charakteristika****Age** 30 rokov**Gender** Ženy**Ethnicity** Afroameričan**Morphology** Epitelové bunky s mozaikovým tvarom kameňa**Growth properties** Monovrstva, priliehajúca**Regulačné údaje**

Bunky HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921

Citation	HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry (katalógové číslo Cytion 300921)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D62
Depositor	Ellenbergova laboratória (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Táto línia HeLa Kyoto obsahuje konštrukty EGFP-Lamin A a H2B-mCherry, ktoré umožňujú dvojfarebné zobrazovanie jadrovej laminy a chromatínu. Táto klasifikácia platí iba v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.

Biomolekulárne údaje

Protein expression	EGFP-LaminA/H2B-mCherry
Products	Histón H2B

Spracovanie

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Seeding density	1 x 10 ⁴ buniek/cm ²
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne

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

Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5×10^4 buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Bunky HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry | 300921

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Alely HLA

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