

**Bunky HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919****Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry je in vitro model odvodený od HeLa Kyoto a určený na vizualizáciu dynamiky chromatinu a jadrovej architektúry v živých bunkách v reálnom čase. Táto bunková línia exprimuje dve fúzie fluorescenčných proteínov: EGFP (rozšírený zelený fluorescenčný proteín) fúzovaný s laminom B1 a mCherry (červený fluorescenčný proteín) fúzovaný s histónom H2B. Fúzia EGFP s laminom B1 umožňuje pozorovať jadrový obal a jadrovú lamelu, štruktúry dôležité pre zachovanie integrity a funkčnosti jadra. Laminové proteíny sú proteíny intermediárnych vlákien typu V, ktoré tvoria sieť pod vnútornou jadrovou membránou a zohrávajú kľúčovú úlohu v jadrovej stabilite, organizácii chromatinu a regulácii génov.

Na druhej strane histón H2B označený mCherry umožňuje vizualizáciu chromatinu v jadre. Históny sú základnými zložkami nukleozómu, ktoré sa podieľajú na organizácii DNA do chromatinu, vďaka čomu sú kľúčové pre replikáciu, opravu a transkripciu DNA. Značka mCherry na H2B poskytuje žiarivú červenú fluorescenciu, ktorá kontrastuje so zelenou fluorescenciou EGFP, čo umožňuje súčasné duálne zobrazenie jadrovej štruktúry a chromatinu v experimentoch so živými bunkami. Táto bunková línia sa bežne používa v štúdiách zameraných na jadrovú mechaniku, mitózu a stabilitu genómu a poskytuje dynamický pohľad na bunkové procesy, ktoré je inak ťažké pozorovať v reálnom čase.

**Organism** Ľudské**Tissue** Cervix**Disease** Karcinóm**Synonyms** HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 a H2B-mCherry**Charakteristika****Age** 30 rokov**Gender** Ženy**Ethnicity** Afroameričan**Morphology** Epitelové bunky s mozaikovým tvarom kameňa**Growth properties** Monovrstva, priliehajúca**Regulačné údaje****Citation** HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry (katalógové číslo Cytion 300919)

**Bunky HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_UR41**Depositor** Ellenbergova laboratória (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Táto línia HeLa Kyoto obsahuje konštrukty EGFP-Lamin B1 a H2B-mCherry na zobrazovanie jadrovej membrány a organizácie chromatinu. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.**Biomolekulárne údaje****Protein expression** EGFP-LaminB1/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<sub>3</sub>, 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 odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  buniek/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii  $5 \times 10^4$  buniek/cm<sup>2</sup> a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

**Bunky HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919****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 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating**

Žiadne

**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.

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

### 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.