

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

## Splošne informacije

## Description

Celična linija HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry je in vitro model HeLa Kyoto, zasnovan za vizualizacijo dinamike kromatina in jedrne arhitekture v živih celicah v realnem času. Ta celična linija izraža dve fuziji fluorescenčnih proteinov: EGFP (okrepljeni zeleni fluorescenčni protein), združen z laminom B1, in mCherry (rdeči fluorescenčni protein), združen s histonom H2B. Fuzija EGFP z laminom B1 omogoča opazovanje jedrske ovojnice in jedrske plošče, struktur, ki so ključne za ohranjanje celovitosti in funkcionalnosti jedra. Beljakovine lamina so vmesne filamentne beljakovine tipa V, ki tvorijo mrežo pod notranjo jedrno membrano in imajo ključno vlogo pri stabilnosti jedra, organizaciji kromatina in regulaciji genov.

Po drugi strani pa histon H2B, označen z mCherryjem, omogoča vizualizacijo kromatina v jedru. Histoni so temeljne sestavine nukleosoma, ki sodelujejo pri organizaciji DNK v kromatin, zaradi česar so ključni za replikacijo, popravljanje in transkripcijo DNK. Oznaka mCherry na H2B zagotavlja živo rdečo fluorescenco, ki je v nasprotju z zeleno fluorescenco EGFP, kar omogoča hkratno dvojno slikanje strukture jedra in kromatina v poskusih z živimi celicami. Ta celična linija se pogosto uporablja v študijah, ki se osredotočajo na jedrsko mehaniko, mitozo in stabilnost genoma, saj omogoča dinamičen pogled na celične procese, ki jih je sicer težko opazovati v realnem času.

## Organism

Človek

## Tissue

Maternični vrat

## Disease

Karcinom

## Metastatic site

Mesto primarnega tumorja (maternični vrat)

## Applications

Jedrska lamina in organizacija kromatina; dinamika lamin B1; slikanje kromatina H2B; dvo-barvna fluorescenca živih celic; jedrska mehanika; mitoza; stabilnost genoma; biologija jedrske ovojnice

## Synonyms

HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 in H2B-mCherry

## Značilnosti

## Age

30 let

## Gender

Ženske

## Ethnicity

Afroameričan

## Morphology

Epitelnim celicam podobne celice z obliko mozaičnih kamenčkov

## Cell type

Epitelijske celice

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

**Growth properties** Enoslojni, adherentni

**Regulativni podatki**

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

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_UR41

**Depositor** Laboratorij Ellenberg (EMBL)

**GMO Status** GMO-S1: Ta linija HeLa Kyoto vsebuje konstrukte EGFP-Lamin B1 in H2B-mCherry za slikanje jedrske ovojnice in organizacije kromatina. Ta klasifikacija velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.

**Biomolekularni podatki**

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

**Products** Histon H2B

**Ravnanje s spletno stranjo**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)

**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

**HK celice EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919****Seeding density**  $1 \times 10^4$  celic/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Post-Thaw Recovery** Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti  $5 \times 10^4$  cel<sup>ic</sup>/cm<sup>2</sup> in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.**Thawing and Culturing Cells**

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

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

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

**Flask Coating** Nič

**Freezing Procedure**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

**Shipping Conditions**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

**Storage Conditions**

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Shranjevanje pri  $-80^{\circ}\text{C}$  je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

## Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

**Sterility**

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.