

## Клітини вишні НК EGFP-LaminB1/H2B | 300919

## Загальна інформація

## Description

Клітинна лінія НК EGFP-LaminB1/H2B-mCherry - це модель in vitro, отримана компанією HeLa Kyoto і призначена для візуалізації в реальному часі динаміки хроматину та ядерної архітектури в живих клітинах. Ця клітинна лінія експресує два флуоресцентні білки: EGFP (посилений зелений флуоресцентний білок), злитий з ламіном B1, та mCherry (червоний флуоресцентний білок), злитий з гістоном H2B. Злиття EGFP з ламіном B1 дозволяє спостерігати ядерну оболонку і ядерну пластинку - структури, критичні для підтримки цілісності і функціональності ядра. Білки ламіна - це білки проміжних філаментів типу V, які утворюють сітчасту структуру, що лежить в основі внутрішньої ядерної мембрани, і відіграють ключову роль у стабільності ядра, організації хроматину та регуляції генів.

З іншого боку, гістон H2B, мічений mCherry, дозволяє візуалізувати хроматин у ядрі. Гістони є фундаментальними компонентами нуклеосоми, які беруть участь в організації ДНК у хроматин, що робить їх критично важливими для реплікації, репарації та транскрипції ДНК. Мітка mCherry на H2B забезпечує яскраву червону флуоресценцію, яка контрастує із зеленою флуоресценцією EGFP, що дозволяє одночасно візуалізувати ядерну структуру та хроматин в експериментах на живих клітинах. Ця клітинна лінія широко використовується в дослідженнях ядерної механіки, мітозу та стабільності геному, забезпечуючи динамічний погляд на клітинні процеси, які інакше важко спостерігати в реальному часі.

**Organism** Людина

**Tissue** Шийка матки

**Disease** Карцинома

**Synonyms** HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 та H2B-mCherry

## Характеристики

**Age** 30 років

**Gender** Жінка

**Ethnicity** Афроамериканець

**Morphology** Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю

**Growth properties** Одношаровий, адгезійний

## Нормативні дані

## Клітини вишні НК EGFP-LaminB1/H2B | 300919

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| <b>Citation</b>             | НК EGFP-LaminB1/H2B-mCherry (номер за каталогом Cytion 300919)  |
| <b>Biosafety level</b>      | 1   |
| <b>NCBI_TaxID</b>           | 9606  |
| <b>CellosaurusAccession</b> | CVCL_UR41   |
| <b>Depositor</b>            | Лабораторія Елленберга (EMBL)   |
| <b>GMO Status</b>           | GMO-S1: Ця лінія HeLa Kyoto містить конструкції EGFP-Lamin B1 та H2B-mCherry для візуалізації ядерної оболонки та організації хроматину. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах. |

## Біомолекулярні дані

|                           |                          |
|---------------------------|--------------------------|
| <b>Protein expression</b> | EGFP-LaminB1/H2B-mCherry |
| <b>Products</b>           | Гістон H2B               |

## Обробка

|                             |  |
|-----------------------------|--|
| <b>Culture Medium</b>       | DMEM, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)  |
| <b>Supplements</b>          | Додайте до середовища 10% FBS  |
| <b>Dissociation Reagent</b> | Аккутаза   |
| <b>Subculturing</b>         | Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище. |
| <b>Seeding density</b>      | $1 \times 10^4$ клітин/см <sup>2</sup>   |
| <b>Fluid renewal</b>        | 2-3 рази на тиждень  |

**Клітини вишні НК EGFP-LaminB1/H2B | 300919****Post-Thaw Recovery**

Після розморожування висійте клітини з щільністю  $5 \times 10^4$  клітин/ $\text{cm}^2$  і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.

**Freeze medium**

Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче  $-150^\circ\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^\circ\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation Atmosphere**

$37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

**Flask Coating**

Hi

## Клітини вишні НК EGFP-LaminB1/H2B | 300919

### Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.