

## Κύτταρα HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry | 300670

## Γενικές πληροφορίες

## Description

Η κυτταρική σειρά HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry HeLa Kyoto είναι ένα σχολαστικά κατασκευασμένο μοντέλο που έχει σχεδιαστεί για λεπτομερή απεικόνιση των κυτταρικών διεργασιών. Αυτή η κλωνική σειρά έχει διαμολυνθεί σταθερά για να εκφράσει δύο συγχωνεύσεις φθορίζουσας πρωτεΐνης που επιτρέπουν την απεικόνιση σε πραγματικό χρόνο τόσο της χρωματίνης όσο και του μικροσωληναριακού δικτύου. Η κόκκινη φθορίζουσα πρωτεΐνη mCherry είναι συγχωνευμένη με την κεντρική πρωτεΐνη ιστονών H2B, δημιουργώντας την H2B-mCherry. Αυτή η πρωτεΐνη σύντηξης εκφράζεται από το πλασμίδιο pH2B-mCherry-IRES-neo3 και χρησιμεύει ως δείκτης χρωματίνης, αναδεικνύοντας το πυρηνικό DNA στην απεικόνιση ζωντανών κυττάρων και διευκολύνοντας μελέτες σχετικά με τη δυναμική της χρωματίνης και την πυρηνική αρχιτεκτονική.

Επιπλέον, η εν λόγω κυτταρική σειρά εκφράζει μονομερή ενισχυμένη GFP (πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη) συγχωνευμένη με α-τουμπουλίνη, η οποία εισάγεται μέσω του πλασμιδίου pmEGFP-α-tubulin-IRES-puro2b. Η σύντηξη GFP-α-τουμπουλίνης παρέχει έναν έντονο πράσινο φθορισμό που περιγράφει τις δομές των μικροσωληνίσκων εντός του κυττάρου. Αυτό το χαρακτηριστικό είναι ζωτικής σημασίας για τη μελέτη της οργάνωσης και της δυναμικής των μικροσωληνίσκων και του ρόλου τους στην κυτταρική διαίρεση και την ενδοκυτταρική μεταφορά. Η σταθερή ενσωμάτωση αυτών των κατασκευών επιτρέπει τη συνεχή, μακροχρόνια παρατήρηση αυτών των κυτταρικών συστατικών χωρίς την ανάγκη επαναλαμβανόμενης διαμόλυνσης, μειώνοντας έτσι τη μεταβλητότητα και ενισχύοντας την αξιοπιστία των πειραματικών αποτελεσμάτων. Η επιλογή ανθεκτικότητας στα φάρμακα μετά τη διαμόλυνση εξασφαλίζει τη σταθερότητα και την ομοιομορφία της έκφρασης μεταξύ των κυττάρων αυτής της σειράς.

## Organism

Ανθρώπινο

## Tissue

Τράχηλος μήτρας

## Disease

Καρκίνωμα

## Synonyms

HeLa Kyoto EGFP-a-tubulin/H2B-mCherry, HeLa H2B-mRFP και mEGFP-alpha-tubulin

## Χαρακτηριστικά

## Age

30 χρόνια

## Gender

Γυναίκα

## Ethnicity

Αφροαμερικανός

## Morphology

Επιθηλιακά κύτταρα με ψηφιδωτό σχήμα πέτρας

## Growth properties

Μονοστρωματική, προσκολλημένη

## Κύτταρα HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry | 300670

## Ρυθμιστικά δεδομένα

<b>Citation</b>	HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry (αριθμός καταλόγου Cytion 300670)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_L802
<b>Depositor</b>	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Αυτή η σειρά HeLa Kyoto περιέχει κατασκευάσματα EGFP-α-tubulin και H2B-mCherry για ταυτόχρονη απεικόνιση μικροσωληνίων και χρωματίνης. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

## Βιομοριακά δεδομένα

<b>Protein expression</b>	EGFP-άλφα-τουμπουλίνη, H2B-mCherry: 589 / Pcmv, 652..1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR
<b>Viruses</b>	Αρνητική για HIV, HBV και HCV.
<b>Products</b>	CMV Promotor, ιστόνη H2B, νεομυκίνη, φωσφοτρανσφεράση

## Χειρισμός

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	24 ώρες

**Κύτταρα HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry | 300670**

**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

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

**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

**Post-Thaw Recovery** Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα  $5 \times 10^4$  κύτταρα/cm<sup>2</sup> και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.

**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

## Κύτταρα HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry | 300670

### Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

### Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

### Freezing Procedure

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

## Κύτταρα HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry | 300670

### Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου  $-150$  έως  $-196^{\circ}\text{C}$ . Η αποθήκευση στους  $-80^{\circ}\text{C}$  είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

## Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

### Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.