

## HK EGFP-alfa-tubuliini/H2B-mCherry-solut | 300670

## Yleisiä tietoja

## Description

HK EGFP-alfa-tubuliini/H2B-mCherry HeLa Kyoto -solulinja on huolellisesti suunniteltu malli, joka on suunniteltu soluprosessien yksityiskohtaiseen visualisointiin. Tämä kloonilinja on transfektoitu vakaasti ilmentämään kahta fluoresoivaa proteiinifuusiota, jotka mahdollistavat sekä kromatiinin että mikrotubulaarisen verkoston reaaliaikaisen kuvantamisen. Punainen fluoresoiva proteiini mCherry on fuusioitu histonin ydinproteiiniin H2B:hen, jolloin syntyy H2B-mCherry. Tämä fuusioproteiini ilmentyy pH2B-mCherry-IRES-neo3-plasmidista, ja se toimii kromatiinin merkkiaineena, joka korostaa ydin-DNA:ta elävässä solukuvauksessa ja helpottaa kromatiinin dynamiikan ja ydinarkkitehtuurin tutkimista.

Lisäksi tämä solulinja ilmentää  $\alpha$ -tubuliiniin fuusioitunutta monomeerista tehostettua GFP:tä (vihreä fluoresoiva proteiini), joka on tuotu pmEGFP- $\alpha$ -tubuliini-IRES-puro2b-plasmidilla. GFP- $\alpha$ -tubuliinifuusio tuottaa elinvoimaista vihreää fluoresenssia, joka hahmottaa mikrotubulusten rakenteet solussa. Tämä ominaisuus on ratkaisevan tärkeä tutkittaessa mikrotubulusten järjestäytymistä, dynamiikkaa ja niiden roolia solun jakautumisessa ja solunsisäisessä kuljetuksessa. Näiden konstruktioiden vakaa integrointi mahdollistaa näiden solun komponenttien jatkuvan ja pitkäaikaisen havainnoinnin ilman toistuvaa transfektiota, mikä vähentää vaihtelua ja parantaa kokeellisten tulosten luotettavuutta. Transfektion jälkeinen lääkeresistenssivalinta varmistaa ekspression vakauden ja yhdenmukaisuuden tämän linjan solujen välillä.

**Organism** Ihminen

**Tissue** Kohdunkaula

**Disease** Syöpä

**Synonyms** HeLa Kyoto EGFP-a-tubuliini/H2B-mCherry, HeLa H2B-mRFP ja mEGFP-alfa-tubuliini

## Ominaisuudet

**Age** 30 vuotta

**Gender** Nainen

**Ethnicity** Afroamerikkalainen

**Morphology** Epiteelin kaltaiset solut, joilla on mosaiikkimaisen kiven muotoinen rakenne

**Growth properties** Yksikerroksinen, tarttuva

## Säätelytiedot

## HK EGFP-alfa-tubuliini/H2B-mCherry-solut | 300670

<b>Citation</b>	HK EGFP-alfa-tubuliini/H2B-mCherry (Cytionin luettelonumero 300670)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_L802
<b>Depositor</b>	Ellenbergin laboratorio (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Tämä HeLa Kyoto -linja sisältää EGFP- $\alpha$ -tubuliini- ja H2B-mCherry-rakenteita mikrotubulusten ja kromatiinin samanaikaiseen kuvantamiseen. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.

## Biomolekyyli tiedot

<b>Protein expression</b>	EGFP-alfa-tubuliini, H2B-mCherry: 589 / Pcmv, 652..1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR
<b>Viruses</b>	HIV-, HBV- ja HCV-negatiivinen.
<b>Products</b>	CMV-promoottori, histoni H2B, neomysiini, fosfotransferaasi, fosfotransferaasi

## Käsittely

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
<b>Supplements</b>	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	24 tuntia
<b>Subculturing</b>	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliainetta.

**HK EGFP-alfa-tubuliini/H2B-mCherry-solut | 300670**

**Seeding density** 1 x 10<sup>4</sup> solua/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa

**Post-Thaw Recovery** Sulattamisen jälkeen levitä solut 5 x 10<sup>4</sup> solua/cm<sup>2</sup> ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

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

## HK EGFP-alfa-tubuliini/H2B-mCherry-solut | 300670

**Flask Coating** Ei mitään

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.