

**Sel HK EGFP-alpha-tubulin / H2B-mCherry | 300670****Informasi umum****Description**

Garis sel HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry HeLa Kyoto adalah model yang direkayasa dengan cermat yang dirancang untuk visualisasi proses seluler secara terperinci. Garis klonal ini telah ditransfeksi secara stabil untuk mengekspresikan dua fusi protein fluoresen yang memungkinkan pencitraan waktu nyata dari kromatin dan jaringan mikrotubular. Protein fluoresen merah mCherry menyatu dengan protein histone inti H2B, menciptakan H2B-mCherry. Protein fusi ini diekspresikan dari plasmid pH2B-mCherry-IRES-neo3 dan berfungsi sebagai penanda kromatin, menyoroti DNA nuklir dalam pencitraan sel hidup dan memfasilitasi studi tentang dinamika kromatin dan arsitektur nuklir.

Selain itu, garis sel ini mengekspresikan GFP (Green Fluorescent Protein) yang disempurnakan secara monomer yang menyatu dengan  $\alpha$ -tubulin, yang diperkenalkan melalui plasmid pmEGFP- $\alpha$ -tubulin-IRES-puro2b. Fusi GFP- $\alpha$ -tubulin memberikan fluoresensi hijau yang jelas yang menguraikan struktur mikrotubulus di dalam sel. Fitur ini sangat penting untuk mempelajari organisasi mikrotubulus, dinamika, dan perannya dalam pembelahan sel dan transportasi intraseluler. Integrasi yang stabil dari konstruksi ini memungkinkan pengamatan jangka panjang yang berkelanjutan terhadap komponen seluler ini tanpa perlu transfeksi berulang, sehingga mengurangi variabilitas dan meningkatkan keandalan hasil eksperimen. Seleksi resistensi obat setelah transfeksi memastikan stabilitas dan keseragaman ekspresi di antara sel-sel di jalur ini.

**Organism**

Manusia

**Tissue**

Serviks

**Disease**

Karsinoma

**Synonyms**

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

**Karakteristik****Age**

30 tahun

**Gender**

Perempuan

**Ethnicity**

Afrika-Amerika

**Morphology**

Sel mirip epitel dengan bentuk batu mosaik

**Growth properties**

Monolayer, patuh

**Data Peraturan**

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

<b>Citation</b>	HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry (nomor katalog Cytion 300670)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_L802
<b>Depositor</b>	Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Garis sel HeLa Kyoto ini mengandung konstruksi EGFP- $\alpha$ -tubulin dan H2B-mCherry untuk pemantauan simultan mikrotubulus dan kromatin. Klasifikasi ini berlaku hanya di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.

**Data Biomolekuler**

<b>Protein expression</b>	EGFP-alpha-tubulin, H2B-mCherry: Lokasi / Gen: 1..589 / Pcmv, 652..1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR / NeoR
<b>Viruses</b>	Negatif untuk HIV, HBV dan HCV.
<b>Products</b>	Promotor CMV, Histone H2B, Neomisin, Fosfotransferase

**Penanganan**

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Tambahkan media dengan 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	24 jam
<b>Subculturing</b>	Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.

**Sel HK EGFP-alpha-tubulin / H2B-mCherry | 300670****Seeding density**  $1 \times 10^4$  sel/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 hingga 3 kali per minggu**Post-Thaw Recovery** Setelah dicairkan, tanam sel pada kepadatan  $5 \times 10^4$  sel/cm<sup>2</sup> dan biarkan sel pulih dari proses pembekuan serta menempel setidaknya selama 24 jam.**Freeze medium** Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.**Thawing and Culturing Cells**

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada 300 x g selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, atmosfer yang dilembapkan.

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

**Flask Coating** Tidak ada

### Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar  $-78^{\circ}\text{C}$  selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

### Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar  $-78^{\circ}\text{C}$  selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

### Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar  $-150$  hingga  $-196^{\circ}\text{C}$ . Penyimpanan pada suhu  $-80^{\circ}\text{C}$  hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

## Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

### Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.