

## HK EGFP-alfa-tubuline/H2B-mCherry-cellen | 300670

## Algemene informatie

## Description

De HK EGFP-alfa-tubuline/H2B-mCherry HeLa Kyoto cellijn is een zorgvuldig ontworpen model ontworpen voor gedetailleerde visualisatie van cellulaire processen. Deze klonale lijn is stabiel getransfecteerd tot expressie twee fluorescerende eiwit fusies die real-time beeldvorming van zowel chromatine en de microtubulaire netwerk mogelijk te maken. Het rode fluorescerende eiwit mCherry is gefuseerd met het histon-eiwit H2B, waardoor H2B-mCherry ontstaat. Dit fusie-eiwit wordt tot expressie gebracht met het pH2B-mCherry-IRES-neo3 plasmide en dient als chromatinemarker, waarbij het nucleaire DNA in live-cel beeldvorming wordt gemarkeerd en studies naar chromatinedynamiek en nucleaire architectuur worden vergemakkelijkt.

Daarnaast brengt deze cellijn monomeer versterkt GFP (Green Fluorescent Protein) tot expressie, gefuseerd met  $\alpha$ -tubuline, geïntroduceerd via het pmEGFP- $\alpha$ -tubuline-IRES-puro2b plasmide. De fusie van GFP- $\alpha$ -tubuline zorgt voor een levendige groene fluorescentie die de microtubulestructuren in de cel omlijnt. Deze eigenschap is cruciaal voor het bestuderen van de organisatie en dynamiek van microtubuli en hun rol in celdeling en intracellulair transport. De stabiele integratie van deze constructen maakt continue langetermijnobservatie van deze cellulaire componenten mogelijk zonder de noodzaak van herhaalde transfectie, waardoor de variabiliteit afneemt en de betrouwbaarheid van de experimentele resultaten toeneemt. Selectie op resistentie tegen medicijnen na transfectie zorgt voor stabiliteit en uniformiteit van expressie tussen de cellen in deze lijn.

## Organism

Mens

## Tissue

Baarmoederhals

## Disease

Carcinoom

## Synonyms

HeLa Kyoto EGFP-a-tubuline/H2B-mCherry, HeLa H2B-mRFP en mEGFP-alfa-tubuline

## Kenmerken

## Age

30 jaar

## Gender

Vrouw

## Ethnicity

Afro-Amerikaan

## Morphology

Epitheelachtige cellen met mozaïeksteenvorm

## Growth properties

Monolaag, adherent

## Regelgevende gegevens

## HK EGFP-alfa-tubuline/H2B-mCherry-cellen | 300670

<b>Citation</b>	HK EGFP-alfa-tubuline/H2B-mCherry (Cytion catalogusnummer 300670)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_L802
<b>Depositor</b>	Het Ellenberg Lab (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Deze HeLa Kyoto-lijn bevat EGFP- $\alpha$ -tubuline- en H2B-mCherry-constructen voor gelijktijdige beeldvorming van microtubuli en chromatine. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders afwijken.

## Biomoleculaire gegevens

<b>Protein expression</b>	EGFP-alfa-tubuline, H2B-mCherry: Locatie/gen: 1..589 / Pcmv, 652..1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR
<b>Viruses</b>	Negatief voor HIV, HBV en HCV.
<b>Products</b>	CMV Promotor, Histon H2B, Neomycine, Fosfotransferase

## Omgaan met

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)
<b>Supplements</b>	Vul het medium aan met 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	24 uur
<b>Subculturing</b>	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

## HK EGFP-alfa-tubuline/H2B-mCherry-cellen | 300670

**Split ratio** Een verhouding van 1:3 wordt aanbevolen

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

**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week

**Post-Thaw Recovery** Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van  $5 \times 10^4$  cellen/cm<sup>2</sup> en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.

**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

### Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

## HK EGFP-alfa-tubuline/H2B-mCherry-cellen | 300670

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , bevochtigde atmosfeer.

**Flask Coating** Geen

**Freezing Procedure** Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

**Shipping Conditions** Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

**Storage Conditions** Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

## Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

**Sterility** Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.