

## HK celice EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry | 300670

## Splošne informacije

## Description

Celična linija HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry HeLa Kyoto je skrbno izdelan model, namenjen podrobni vizualizaciji celičnih procesov. Ta klonska linija je bila stabilno transficirana za izražanje dveh fluorescenčnih proteinov, ki omogočata slikanje kromatina in mikrotubularnega omrežja v realnem času. Rdeči fluorescenčni protein mCherry je spojen z osrednjim histonskim proteinom H2B, tako da nastane H2B-mCherry. Ta fuzijski protein se izraža iz plazmida pH2B-mCherry-IRES-neo3 in služi kot označevalec kromatina, ki pri slikanju živih celic poudari jedro DNK ter olajša študije dinamike kromatina in jedrne arhitekture.

Poleg tega ta celična linija izraža monomerni okrepljeni GFP (zeleni fluorescenčni protein), spojen z  $\alpha$ -tubulinom, ki je vnesen s plazmidom pmEGFP- $\alpha$ -tubulin-IRES-puro2b. Fuzija GFP- $\alpha$ -tubulina zagotavlja živo zeleno fluorescenco, ki opisuje strukture mikrotubulov v celici. Ta lastnost je ključna za preučevanje organizacije mikrotubulov, njihove dinamike in vloge pri celični delitvi in znotrajceličnem transportu. Stabilna integracija teh konstruktov omogoča neprekinjeno, dolgoročno opazovanje teh celičnih komponent brez potrebe po večkratni transfekciji, s čimer se zmanjša variabilnost in poveča zanesljivost eksperimentalnih rezultatov. Izbira odpornosti na zdravila po transfekciji zagotavlja stabilnost in enotnost izražanja med celicami v tej liniji.

## Organism

Človek

## Tissue

Maternični vrat

## Disease

Karcinom

## Synonyms

HeLa Kyoto EGFP- $\alpha$ -tubulin/H2B-mCherry, HeLa H2B-mRFP in mEGFP- $\alpha$ -tubulin

## Značilnosti

## Age

30 let

## Gender

Ženske

## Ethnicity

Afroameričan

## Morphology

Epitelnim celicam podobne celice z obliko mozaičnih kamenčkov

## Growth properties

Enoslojni, adherentni

## Regulativni podatki

## Citation

HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry (kataloška številka Cytion 300670)

## HK celice EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry | 300670

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_L802**Depositor** Laboratorij Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ta linija HeLa Kyoto vsebuje konstrukte EGFP- $\alpha$ -tubulin in H2B-mCherry za sočasno slikanje mikrotubulov in kromatina. Ta klasifikacija velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.**Biomolekularni podatki****Protein expression** EGFP-alfa-tubulin, H2B-mCherry: 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR**Viruses** Negativna za HIV, HBV in HCV.**Products** Promotor CMV, histon H2B, neomicin, fosfotransferaza**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 24 ur**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  celic/cm<sup>2</sup>

**HK celice EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry | 300670****Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Post-Thaw Recovery** Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti  $5 \times 10^4$  cel<sup>ic</sup>/cm<sup>2</sup> in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.**Thawing and Culturing Cells**

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, vlažno ozračje.**Flask Coating** Nič

## HK celice EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry | 300670

### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Shranjevanje pri  $-80^{\circ}\text{C}$  je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

## Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

### Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.