

**HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry Hücreleri | 300670****Genel bilgi****Description**

HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry HeLa Kyoto hücre hattı, hücresel süreçlerin ayrıntılı görselleştirilmesi için titizlikle tasarlanmış bir modeldir. Bu klonal çizgi, hem kromatin hem de mikrotübüler ağı gerçek zamanlı görüntülenmesini sağlayan iki floresan protein füzyonunu ifade etmek için kararlı bir şekilde transfekte edilmiştir. Kırmızı floresan protein mCherry, çekirdek histon proteini H2B'ye kaynaştırılarak H2B-mCherry oluşturulur. Bu füzyon proteini pH2B-mCherry-IRES-neo3 plazmidinden ifade edilir ve canlı hücre görüntülemeye nükleer DNA'yı vurgulayarak ve kromatin dinamikleri ve nükleer mimari üzerine çalışmaları kolaylaştırarak bir kromatin işaretleyici görevi görür.

Ek olarak, bu hücre hattı pmEGFP- $\alpha$ -tubulin-IRES-puro2b plazmidi aracılığıyla tanıtilen  $\alpha$ -tubuline kaynaşmış monomerik geliştirilmiş GFP'yi (Yeşil Floresan Protein) ifade eder. GFP- $\alpha$ -tubulin füzyonu, hücre içindeki mikrotübül yapılarını özetleyen canlı bir yeşil floresan sağlar. Bu özellik, mikrotübül organizasyonu, dinamikleri ve bunların hücre bölünmesi ve hücre içi taşınmasındaki rollerini incelemek için çok önemlidir. Bu yapıların istikrarlı entegrasyonu, tekrarlanan transfeksiyona gerek kalmadan bu hücresel bileşenlerin sürekli ve uzun süreli gözlemlenmesine olanak tanıyarak değişkenliği azaltır ve deneysel sonuçların güvenilirliğini artırır. Transfeksiyonu takiben ilaç direnci seçimi, bu hattaki hücreler arasında ifadenin istikrarını ve homojenliğini sağlar.

**Organism** İnsan**Tissue** Serviks**Disease** Karsinom**Synonyms** HeLa Kyoto EGFP- $\alpha$ -tubulin/H2B-mCherry, HeLa H2B-mRFP ve mEGFP-alfa-tubulin**Özellikler****Age** 30 yıl**Gender** Kadın**Ethnicity** Afro-Amerikan**Morphology** Mozaik taş şekilli epitel benzeri hücreler**Growth properties** Tek katmanlı, yapışık**Düzenleyici Veriler**

**HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry Hücreleri | 300670**

<b>Citation</b>	HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry (Cytion katalog numarası 300670)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_L802
<b>Depositor</b>	Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Bu HeLa Kyoto hattı, mikrotübüllerin ve kromatinin eşzamanlı görüntülenmesi için EGFP- $\alpha$ -tubulin ve H2B-mCherry yapıları içerir. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya içinde geçerlidir ve başka ülkelerde farklılık gösterebilir.

**Biyomoleküler Veriler**

<b>Protein expression</b>	EGFP-alfa-tubulin, H2B-mCherry: Konum/Gen: 1..589 / Pcmv, 652..1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR
<b>Viruses</b>	HIV, HBV ve HCV negatif.
<b>Products</b>	CMV Promotor, Histon H2B, Neomisin, Fosfotransferaz

**Elleçleme**

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)
<b>Supplements</b>	Ortamı %10 FBS ile takviye edin
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	24 saat
<b>Subculturing</b>	Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

**HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry Hücreleri | 300670****Seeding density** 1 x 10<sup>4</sup> hücre/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**Post-Thaw Recovery** Çözüldükten sonra, hücreleri 5 x 10<sup>4</sup> hücre/cm<sup>2</sup> olarak plakaya yerleştirin ve hücrelerin dondurma işleminden kurtulmasını ve en az 24 saat boyunca yapışmasını bekleyin.**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.**Thawing and Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation Atmosphere** 37°C, %5<sub>CO2</sub>, nemlendirilmiş atmosfer.

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

### Flask Coating

Çözüldükten sonra optimum tutunma ve canlılık için **Kolajen kaplı flasklar veya plakalar** kullanmanızı öneririz.

### Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

### Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

### Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

## Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

### Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.