

## Клітини вишні НК EGFP-альфа-тубулін/H2B-m | 300670

## Загальна інформація

## Description

Клітинна лінія НК EGFP-альфа-тубулін/H2B-mCherry HeLa Kyoto - це ретельно розроблена модель, призначена для детальної візуалізації клітинних процесів. Ця клональна лінія була стабільно трансфікована для експресії двох флуоресцентних білків, які дозволяють візуалізувати хроматин та мікротрубочкову мережу в реальному часі. Червоний флуоресцентний білок mCherry зливається з основним гістонним білком H2B, утворюючи H2B-mCherry. Цей злитий білок експресується з плазміди pH2B-mCherry-IRES-neo3 і слугує маркером хроматину, виділяючи ядерну ДНК при візуалізації живих клітин і полегшуючи дослідження динаміки хроматину та ядерної архітектури.

Крім того, ця клітинна лінія експресує мономерний посилений GFP (зелений флуоресцентний білок), злитий з  $\alpha$ -тубуліном, введений за допомогою плазміди pmEGFP- $\alpha$ -тубулін-IRES-puro2b. Злиття GFP- $\alpha$ -тубуліну з  $\alpha$ -тубуліном забезпечує яскраву зелену флуоресценцію, яка окреслює структури мікротрубочок у клітині. Ця особливість має вирішальне значення для вивчення організації та динаміки мікротрубочок, їхньої ролі в клітинному поділі та внутрішньоклітинному транспорті. Стабільна інтеграція цих конструкцій дозволяє проводити безперервне довготривале спостереження за цими клітинними компонентами без необхідності повторної трансфекції, зменшуючи таким чином варіабельність і підвищуючи надійність експериментальних результатів. Відбір резистентності до лікарських препаратів після трансфекції забезпечує стабільність і однорідність експресії серед клітин цієї лінії.

## Organism

Людина

## Tissue

Шийка матки

## Disease

Карцинома

## Synonyms

HeLa Kyoto EGFP- $\alpha$ -тубулін/H2B-mCherry, HeLa H2B-mRFP та mEGFP-альфа-тубулін

## Характеристики

## Age

30 років

## Gender

Жінка

## Ethnicity

Афроамериканець

## Morphology

Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю

## Growth properties

Одношаровий, адгезійний

## Нормативні дані

## Клітини вишні НК EGFP-альфа-тубулін/H2B-m | 300670

<b>Citation</b>	НК EGFP-альфа-тубулін/H2B-mCherry (номер за каталогом Cytion 300670)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_L802
<b>Depositor</b>	Лабораторія Елленберга (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Ця лінія HeLa Kyoto містить конструкції EGFP- $\alpha$ -тубулін та H2B-mCherry для одночасного візуалізування мікротрубочок та хроматину. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині та може відрізнятися в інших країнах.

## Біомолекулярні дані

<b>Protein expression</b>	EGFP-альфа-тубулін, H2B-mCherry: Розташування/ген: 1..589 / Pcmv, 652.1029 H2B, 1042.1752 / mCherry, 2983.3777 / KanR/NeoR
<b>Viruses</b>	Негативний на ВІЛ, ВГВ та ВГС.
<b>Products</b>	Промотор ЦМВ, гістон H2B, неоміцин, фосфотрансфераза

## Обробка

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)
<b>Supplements</b>	Додайте до середовища 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Аккутаза
<b>Doubling time</b>	24 години
<b>Subculturing</b>	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

**Клітини вишні НК EGFP-альфа-тубулін/H2B-m | 300670**

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень

**Post-Thaw Recovery** Після розморожування висійте клітини з щільністю  $5 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup> і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.

**Freeze medium** Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

## Клітини вишні НК EGFP-альфа-тубулін/H2B-m | 300670

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

**Flask Coating** Ні

**Freezing Procedure** Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

**Shipping Conditions** Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

**Storage Conditions** Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

**Sterility** Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.