**Product sheet**

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

## Загальна інформація

| | |
|---|---|
| **Description** | Клітинна лінія HK 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.<br><br>Крім того, ця клітинна лінія експресує мономерний посилений GFP (зелений флуоресцентний білок), злитий з α-тубуліном, введений за допомогою плазміди pmEGFP-α-тубулін-IRES-puro2b. Злиття GFP-α-тубуліну з α-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-a-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 HK EGFP-альфа-тубулін/H2B-m | 300670

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

## Біомолекулярні дані

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

## Обробка

| | |
|---|---|
| **Culture Medium** | ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO3, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a) |
| **Supplements** | Додайте до середовища 10% FBS |
| **Dissociation Reagent** | Аккутаза |
| **Doubling time** | 24 години |
| **Subculturing** | 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 HK EGFP-альфа-тубулін/H2B-m | 300670

| | |
|---|---|
| **Seeding density** | 1 x $10^4$ клітин/см2 |
| **Fluid renewal** | 2-3 рази на тиждень |
| **Post-Thaw Recovery** | Після розморожування висійте клітини з щільністю 5 x $10^4$ клітин/см2 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°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°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 x 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 HK EGFP-альфа-тубулін/H2B-m | 300670

| | |
|---|---|
| **Incubation Atmosphere** | 37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера. |
| **Flask Coating** | Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**. |
| **Freezing Procedure** | Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній 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 перевіреній 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.<br><br>Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю. |