# HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry

300670

## INFORMASI UMUM

### Deskripsi

Garis sel HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry HeLa Kyoto adalah model yang direkayasa dengan cermat yang dirancang untuk visualisasi proses seluler secara terperinci. Garis klonal ini telah ditransfeksi secara stabil untuk mengekspresikan dua fusi protein fluoresen yang memungkinkan pencitraan waktu nyata dari kromatin dan jaringan mikrotubular. Protein fluoresen merah mCherry menyatu dengan protein histone inti H2B, menciptakan H2B-mCherry. Protein fusi ini diekspresikan dari plasmid pH2B-mCherry-IRES-neo3 dan berfungsi sebagai penanda kromatin, menyoroti DNA nuklir dalam pencitraan sel hidup dan memfasilitasi studi tentang dinamika kromatin dan arsitektur nuklir. Selain itu, garis sel ini mengekspresikan GFP (Green Fluorescent Protein) yang disempurnakan secara monomer yang menyatu dengan α-tubulin, yang diperkenalkan melalui plasmid pmEGFP-α-tubulin-IRES-puro2b. Fusi GFP-α-tubulin memberikan fluoresensi hijau yang jelas yang menguraikan struktur mikrotubulus di dalam sel. Fitur ini sangat penting untuk mempelajari organisasi mikrotubulus, dinamika, dan perannya dalam pembelahan sel dan transportasi intraseluler. Integrasi yang stabil dari konstruksi ini memungkinkan pengamatan jangka panjang yang berkelanjutan terhadap komponen seluler ini tanpa perlu transfeksi berulang, sehingga mengurangi variabilitas dan meningkatkan keandalan hasil eksperimen. Seleksi resistensi obat setelah transfeksi memastikan stabilitas dan keseragaman ekspresi di antara sel-sel di jalur ini.

| | |
|---|---|
| **Tisu** | Serviks |
| **Penyakit** | Karsinoma |

### Sinonim

- HeLa Kyoto EGFP-a-tubulin/H2B-mCherry
- HeLa H2B-mRFP and mEGFP-alpha-tubulin

## KLASIFIKASI

| | |
|---|---|
| **Organisme** | Manusia |
| **Seks** | Perempuan |
| **Sifat-sifat pertumbuhan** | Pengikut |
| **Status GMO** | GMO-S1 |

### Rincian status GMO

GMO-S1: This HeLa Kyoto line contains EGFP-α-tubulin and H2B-mCherry constructs for simultaneous imaging of microtubules and chromatin. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

| | |
|---|---|
| **Tingkat keamanan hayati** | 1 |

## KARAKTERISTIK

| | |
|---|---|
| **Morfologi** | Sel mirip epitel dengan bentuk batu mosaik |
| **Waktu penggandaan** | 24 jam |

## PENGIDENTIFIKASI

### Referensi

HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry (nomor katalog Cytion 300670)

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

| | |
|---|---|
| **Nomor Identifikasi Pajak NCBI** | 9606 |
| **Cellosaurus** | CVCL_L802 |
| **Nasabah penyimpanan** | Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL) |

## EKSPRESI DAN KERENTANAN

**Ekspresi protein**

EGFP-alpha-tubulin, H2B-mCherry: Lokasi / Gen: 1..589 / Pcmv, 652..1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR / NeoR

**Virus**

Negatif untuk HIV, HBV dan HCV.

**Produk**

Promotor CMV, Histone H2B, Neomisin, Fosfotransferase

## PENANGANAN DAN BUDIDAYA

**Media kultur**

DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)

| | |
|---|---|
| **Suasana inkubasi** | 37°C, 5%CO2, atmosfer yang dilembabkan. |

**Suplemen**

Tambahkan media dengan 10% FBS

| | |
|---|---|
| **Reagen disosiasi** | Accutase |

**Perbanyakan sel**

Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.

| | |
|---|---|
| **Kepadatan penanaman** | 1 x $10^4$ sel/$cm^2$ |
| **Pergantian cairan** | 2 hingga 3 kali per minggu |
| **Pemulihan pasca-pencairan** | Setelah dicairkan, tanam sel pada kepadatan 5 x $10^4$ sel/$cm^2$ dan biarkan sel pulih dari proses pembekuan serta menempel setidaknya selama 24 jam. |

**Pencairan dan pembiakan**

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

## PENGENDALIAN MUTU DAN KRIOPRESERVASI

### Kemandulan

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.
Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.

| | |
|---|---|
| **Media pembekuan** | Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi. |

### Kondisi penyimpanan

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

### Ketentuan pengiriman

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

## DONATUR

| | |
|---|---|
| **Usia donor** | 30 tahun |
| **Etnis** | Afrika-Amerika |

## HUKUM DAN KESELAMATAN

### Tindakan pencegahan keselamatan

Ketika berencana menyimpan kriovial dalam nitrogen cair untuk pencairan di masa mendatang, Anda wajib mematuhi langkah-langkah keamanan yang ketat. Sarung tangan dan pakaian pelindung yang tepat sangat penting, dan penggunaan masker wajah atau kacamata pengaman diperlukan selama pemindahan sampel beku ke atau dari tangki nitrogen cair. Hal ini untuk mengurangi risiko cedera akibat potensi ledakan cryovial pada saat pemindahan, yang dapat mengakibatkan proyeksi fragmen tajam.

### Garansi

Di Cytion, kami mendukung kualitas dan kelangsungan hidup produk kami.
Kami menjamin bahwa sel kami akan dapat bertahan hidup pada awal kultur selama 60 hari setelah pengiriman dari fasilitas kami.
Kami menjamin bahwa semua bahan sesuai dengan spesifikasi yang dijelaskan dalam Sertifikat Analisis dan / atau Lembar Produk
Untuk detail lengkap, silakan merujuk ke <a href=""/Siapa-kami-Garansi/Garansi/"" hreflang=""x-default"">Pernyataan Jaminan kami

| | |
|---|---|
| **Berlaku ketentuan perjanjian pihak ketiga** | Yes |