Product sheet

HK EGFP-алфа-тубулин/H2B-mCherry Клетки | 300670

Обща информация

Description	Клетъчната линия HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry HeLa Kyoto е внимателно разработен модел, предназначен за подробно визуализиране на клетъчните процеси. Тази клонова линия е стабилно трансфектирана, за да експресира два флуоресцентни протеина, които позволяват визуализиране в реално време както на хроматина, така и на микротубулната мрежа. Червеният флуоресцентен протеин mCherry е слят с основния хистонов протеин H2B, създавайки H2B-mCherry. Този фюзионен протеин се експресира от плазмида pH2B-mCherry-IRES-neo3 и служи като хроматинов маркер, като подчертава ядрената ДНК при изобразяване на живи клетки и улеснява изследванията на динамиката на хроматина и ядрената архитектура. Освен това тази клетъчна линия експресира мономерен усилен GFP (зелен флуоресцентен протеин), свързан с α-тубулин, въведен чрез плазмида pmEGFP-α-tubulin-IRES-puro2b. Сливането на GFP-α-тубулин осигурява ярка зелена флуоресценция, която очертава микротубулните структури в клетката. Тази характеристика е от решаващо значение за изучаване на организацията на микротубулите, тяхната динамика и ролята им в клетъчното делене и вътреклетъчния транспорт. Стабилното интегриране на тези конструкти позволява непрекъснато, дългосрочно наблюдение на тези клетъчни компоненти без необходимост от повторна трансфекция, като по този начин се намалява променливостта и се повишава надеждността на експерименталните резултати. Селекцията на лекарствена резистентност след трансфекция гарантира стабилността и еднаквостта на експресията сред клетките в тази линия.
Organism	Човек
Tissue	Цервикс
Disease	Карцином
Synonyms	HeLa Kyoto EGFP-a-tubulin/H2B-mCherry, HeLa H2B-mRFP и mEGFP-alpha-tubulin

Характеристики

Age	30 години
Gender	Жена
Ethnicity	Афроамериканец
Morphology	Епителиални клетки с форма на мозаечно камъче
Growth properties	Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

HK EGFP-алфа-тубулин/H2B-mCherry Клетки | 300670

Citation	HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry (каталожен номер 300670 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_L802
Depositor	Лабораторията на Елънбърг (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Тази линия HeLa Kyoto съдържа конструкции EGFP-α-тубулин и H2B-mCherry за едновременно изображение на микротубули и хроматин. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Protein expression	EGFP-алфа-тубулин, H2B-mCherry: Местоположение/ген: 1..589 / Pcmv, 652..1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR
Viruses	Отрицателни за HIV, HBV и HCV.
Products	CMV Promotor, хистон H2B, неомицин, фосфотрансфераза

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 часа
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

HK EGFP-алфа-тубулин/H2B-mCherry Клетки | 300670

Seeding density	1 x 10^4 клетки/cm^2
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5 x 10^4 клетки/cm^2 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

HK EGFP-алфа-тубулин/H2B-mCherry Клетки | 300670

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.
Flask Coating	За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.
Freezing Procedure	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.