

HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry buňky | 300670

Obecné informace

Description

Buněčná linie HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry HeLa Kyoto je pečlivě navržený model určený pro detailní vizualizaci buněčných procesů. Tato klonální linie byla stabilně transfekována tak, aby exprimovala dvě fluorescenční proteinové fúze, které umožňují zobrazování chromatinu i mikrotubulární sítě v reálném čase. Červený fluorescenční protein mCherry je fúzován se základním histonovým proteinem H2B, čímž vzniká H2B-mCherry. Tento fúzní protein je exprimován z plasmidu pH2B-mCherry-IRES-neo3 a slouží jako chromatinový marker, který zvýrazňuje jadernou DNA při zobrazování v živých buňkách a usnadňuje studie dynamiky chromatinu a jaderné architektury.

Kromě toho tato buněčná linie exprimuje monomerní zesílený GFP (zelený fluorescenční protein) fúzovaný s α -tubulinem, který byl zaveden prostřednictvím plasmidu pmEGFP- α -tubulin-IRES-puro2b. Fúze GFP- α -tubulinu poskytuje živou zelenou fluorescenci, která obkresluje mikrotubulární struktury v buňce. Tato vlastnost je klíčová pro studium organizace mikrotubulů, jejich dynamiky a úlohy při dělení buněk a vnitrobuněčném transportu. Stabilní integrace těchto konstruktů umožňuje nepřetržité a dlouhodobé pozorování těchto buněčných složek bez nutnosti opakované transfekce, čímž se snižuje variabilita a zvyšuje spolehlivost experimentálních výsledků. Selektce lékové rezistence po transfekci zajišťuje stabilitu a jednotnost exprese mezi buňkami této linie.

Organism

Člověk

Tissue

Cervix

Disease

Karcinom

Synonyms

HeLa Kyoto EGFP- α -tubulin/H2B-mCherry, HeLa H2B-mRFP a mEGFP-alfa-tubulin

Charakteristika

Age

30 let

Gender

Ženy

Ethnicity

Afroameričan

Morphology

Buňky podobné epitelu s mozaikovitým tvarem kamínků

Growth properties

Monovrstva, adherentní

Regulační údaje

HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry buňky | 300670

Citation	HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry (katalogové číslo Cytion 300670)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_L802
Depositor	Ellenbergova laboratoř (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Tato linie HeLa Kyoto obsahuje konstrukty EGFP- α -tubulin a H2B-mCherry pro simultánní zobrazování mikrotubulů a chromatinu. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Protein expression	EGFP-alfa-tubulin, H2B-mCherry: 1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR
Viruses	Negativní na HIV, HBV a HCV.
Products	Promotor CMV, histon H2B, neomycin, fosfotransferáza

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 hodin
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:3

HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry buňky | 300670**Seeding density** 1 x 10⁴ buněk/cm²**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste buňky v množství 5 x 10⁴ buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.**Thawing and Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry buňky | 300670

Flask Coating Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.