

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

Generel information

Description

HK EGFP- α -tubulin/H2B-mCherry HeLa Kyoto-cellelinjen er en omhyggeligt konstrueret model, der er designet til detaljeret visualisering af cellulære processer. Denne klonale linje er blevet stabilt transfekteret til at udtrykke to fluorescerende proteinfusioner, der muliggør realtidsafbildning af både kromatin og det mikrotubulære netværk. Det røde fluorescerende protein mCherry er fusioneret med kernehistonproteinet H2B, hvilket skaber H2B-mCherry. Dette fusionsprotein udtrykkes fra pH2B-mCherry-IRES-neo3-plasmidet og fungerer som en kromatinmarkør, der fremhæver det nukleare DNA i live-cellebilleder og letter undersøgelser af kromatin-dynamik og nuklear arkitektur.

Derudover udtrykker denne cellelinje monomert forbedret GFP (grønt fluorescerende protein) fusioneret til α -tubulin, introduceret via pmEGFP- α -tubulin-IRES-puro2b-plasmidet. GFP- α -tubulin-fusionen giver en levende grøn fluorescens, der skitserer mikrotubuli-strukturerne i cellen. Denne funktion er afgørende for at studere mikrotubuli-organisation, dynamik og deres rolle i celledeling og intracellulær transport. Den stabile integration af disse konstruktioner giver mulighed for kontinuerlig, langsigtet observation af disse cellulære komponenter uden behov for gentagen transfektion, hvilket reducerer variabiliteten og forbedrer pålideligheden af eksperimentelle resultater. Selektion af lægemiddelresistens efter transfektion sikrer stabilitet og ensartethed i udtrykket blandt cellerne i denne linje.

Organism

Menneske

Tissue

Livmoderhalsen

Disease

Karcinom

Synonyms

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

Karakteristika

Age

30 år

Gender

Kvinde

Ethnicity

Afroamerikaner

Morphology

Epitel-lignende celler med mosaikstenform

Growth properties

Monolag, klæbende

Regulatoriske data

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

Citation	HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry (Cytion katalognummer 300670)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_L802
Depositor	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linje indeholder EGFP- α -tubulin- og H2B-mCherry-konstruktioner til samtidig billedannelse af mikrotubuli og kromatin. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.

Biomolekylære data

Protein expression	EGFP-alfa-tubulin, H2B-mCherry: Placering/gen: 1..589 / Pcmv, 652..1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR
Viruses	Negativ for HIV, HBV og HCV.
Products	CMV-promotor, histon H2B, neomycin, fosfotransferase

Håndtering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 timer
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

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

Seeding density 1 x 10⁴ celler/cm²

Fluid renewal 2 til 3 gange om ugen

Post-Thaw Recovery Efter optøning skal cellerne udplades med 5 x 10⁴ celler/cm², og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.

Freeze medium Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, befugtet atmosfære.

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

Flask Coating Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.