

HK EGFP-alpha-Tubulin/H2B-mCherry-Zellen | 300670

Allgemeine Informationen

Description	Diese HeLa-Reporterzelllinie exprimiert stabil einen roten Chromatinmarker (Core-Histon 2B fusioniert mit monomerem Cherry; H2B-mCherry; Transfektionsplasmid: pH2B-mCherry-IRES-neo3) und einen Marker für Mikrotubuli (monomeres Enhanced-GFP- α -Tubulin; Transfektionsplasmid: pmEGFP- α -tubulin-IRES-puro2b). Diese klonale stabile Zelllinie wurde durch Transfektion eines zirkulären Plasmids und anschließende Selektion auf Arzneimittelresistenz erzeugt.
Organism	Menschen
Tissue	Gebärmutterhals
Disease	Karzinom
Synonyms	HeLa Kyoto EGFP- α -tubulin/H2B-mCherry, HeLa H2B-mRFP und mEGFP- α -tubulin

Merkmale

Age	30 Jahre
Gender	Weiblich
Ethnicity	Afroamerikaner
Morphology	Epithelähnliche Zellen mit mosaikartiger Steinform
Growth properties	Monolayer, anhaftend

Identifikatoren / Biologische Schutzstufe / Zitation

Citation	HK EGFP-alpha-Tubulin/H2B-mCherry (Cytion Katalognummer 300670)
Biosafety level	1
Depositor	Dr. J. Ellenberg, EMBL Heidelberg

Expression / Mutation

Protein expression	EGFP-alpha-Tubulin, H2B-mCherry: Standort/Gen: 1..589 / Pcmv, 652..1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR
---------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

HK EGFP-alpha-Tubulin/H2B-mCherry-Zellen | 300670

Viruses Negativ für HIV, HBV und HCV.

Products CMV-Promotor, Histon H2B, Neomycin, Phosphotransferase

Handhabung

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 1,5 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)

Medium supplements Supplemente des Mediums mit 10% FBS

Passaging solution Accutase

Doubling time 24 Stunden

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Split ratio Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3

Seeding density 1 x 10⁴ Zellen/cm²

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

Freezing recovery Nach dem Auftauen die Zellen mit 5 x 10⁴ Zellen/cm² plattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und anhaften lassen.

Freeze medium CM-1 (Cytion Katalognummer 800100) oder CM-ACF (Cytion Katalognummer 806100)

HK EGFP-alpha-Tubulin/H2B-mCherry-Zellen | 300670

Handling of cryopreserved cultures

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle nachfolgenden Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig. Sie können die Zentrifugation auch überspringen, aber das restliche Gefriermedium nach 24 Stunden entfernen.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.