

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

Allgemeine Informationen

Description

Die HK EGFP-alpha-Tubulin/H2B-mCherry HeLa Kyoto-Zelllinie ist ein sorgfältig entwickeltes Modell zur detaillierten Visualisierung zellulärer Prozesse. Diese klonale Linie wurde stabil transfiziert, um zwei fluoreszierende Proteinfusionen zu exprimieren, die eine Echtzeit-Darstellung sowohl des Chromatins als auch des Mikrotubuli-Netzwerks ermöglichen. Das rot fluoreszierende Protein mCherry ist mit dem Histon-Kernprotein H2B fusioniert, wodurch H2B-mCherry entsteht. Dieses Fusionsprotein wird vom pH2B-mCherry-IRES-neo3-Plasmid exprimiert und dient als Chromatinmarker, der die Kern-DNA bei der Bildgebung in lebenden Zellen hervorhebt und Untersuchungen zur Chromatindynamik und Kernarchitektur erleichtert.

Darüber hinaus exprimiert diese Zelllinie monomeres verstärktes GFP (Green Fluorescent Protein), das mit α -Tubulin fusioniert ist und über das pmEGFP- α -Tubulin-IRES-puro2b-Plasmid eingeführt wurde. Die GFP- α -Tubulin-Fusion liefert eine lebhaft grüne Fluoreszenz, die die Mikrotubuli-Strukturen in der Zelle erkennen lässt. Diese Eigenschaft ist entscheidend für die Untersuchung der Mikrotubuli-Organisation und -Dynamik sowie ihrer Rolle bei der Zellteilung und dem intrazellulären Transport. Die stabile Integration dieser Konstrukte ermöglicht eine kontinuierliche Langzeitbeobachtung dieser zellulären Komponenten, ohne dass eine wiederholte Transfektion erforderlich ist, wodurch die Variabilität verringert und die Zuverlässigkeit der experimentellen Ergebnisse erhöht wird. Die Selektion auf Medikamentenresistenz nach der Transfektion gewährleistet die Stabilität und Einheitlichkeit der Expression in den Zellen dieser Linie.

Organism

Menschen

Tissue

Gebärmutterhals

Disease

Karzinom

Synonyms

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

Merkmale

Age

30 Jahre

Gender

Weiblich

Ethnicity

Afroamerikaner

Morphology

Epithelähnliche Zellen mit mosaikartiger Steinform

Growth properties

Monolayer, haftend

Regulatorische Daten

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

Citation	HK EGFP-alpha-Tubulin/H2B-mCherry (Cytion Katalognummer 300670)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_L802
Depositor	Das Ellenberg-Labor (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Diese HeLa-Kyoto-Linie enthält EGFP- α -Tubulin- und H2B-mCherry-Konstrukte für die gleichzeitige Bildgebung von Mikrotubuli und Chromatin. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Protein expression	EGFP-alpha-Tubulin, H2B-mCherry: Standort/Gen: 1..589 / Pcmv, 652..1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR
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: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
Dissociation Reagent	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.

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

Split ratio Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3

Seeding density 1×10^4 Zellen/cm²

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

Post-Thaw Recovery Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5×10^4 Zellen/cm² ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhären lassen.

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

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 °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 weiteren 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 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären 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.

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

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating Keine

Freezing Procedure Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

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.