

Cellule HK EGFP-alfa-tubulina/H2B-mCherry | 300670

Informazioni generali

Description

La linea cellulare HK EGFP-alfa-tubulina/H2B-mCherry HeLa Kyoto è un modello meticolosamente progettato per la visualizzazione dettagliata dei processi cellulari. Questa linea clonale è stata trasfettata in modo stabile per esprimere due fusioni di proteine fluorescenti che consentono di visualizzare in tempo reale sia la cromatina che la rete microtubulare. La proteina fluorescente rossa mCherry è fusa con la proteina istone H2B, creando H2B-mCherry. Questa proteina di fusione è espressa dal plasmide pH2B-mCherry-IRES-neo3 e serve come marcatore della cromatina, evidenziando il DNA nucleare nell'imaging delle cellule vive e facilitando gli studi sulla dinamica della cromatina e sull'architettura nucleare.

Inoltre, questa linea cellulare esprime GFP (Green Fluorescent Protein) monomeric potenziata fusa con α -tubulina, introdotta tramite il plasmide pmEGFP- α -tubulina-IRES-puro2b. La fusione GFP- α -tubulina fornisce una fluorescenza verde vivida che delinea le strutture dei microtubuli all'interno della cellula. Questa caratteristica è fondamentale per studiare l'organizzazione e la dinamica dei microtubuli e il loro ruolo nella divisione cellulare e nel trasporto intracellulare. L'integrazione stabile di questi costrutti consente un'osservazione continua e a lungo termine di questi componenti cellulari senza la necessità di ripetere la trasfezione, riducendo così la variabilità e migliorando l'affidabilità dei risultati sperimentali. La selezione della resistenza ai farmaci dopo la trasfezione garantisce la stabilità e l'uniformità dell'espressione tra le cellule di questa linea.

Organism Umano

Tissue Cervice

Disease Carcinoma

Synonyms HeLa Kyoto EGFP-a-tubulina/H2B-mCherry, HeLa H2B-mRFP e mEGFP-alfa-tubulina

Caratteristiche

Age 30 anni

Gender Donna

Ethnicity Afroamericano

Morphology Cellule simili a quelle epiteliali con forma di pietra a mosaico

Growth properties Monostrato, aderente

Dati normativi

Cellule HK EGFP-alfa-tubulina/H2B-mCherry | 300670

Citation	HK EGFP-alfa-tubulina/H2B-mCherry (numero di catalogo Cytion 300670)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_L802
Depositor	Il laboratorio Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: questa linea HeLa Kyoto contiene costrutti EGFP- α -tubulina e H2B-mCherry per l'imaging simultaneo dei microtubuli e della cromatina. Questa classificazione è valida solo in Germania e può variare in altri paesi.

Dati biomolecolari

Protein expression	EGFP-alfa-tubulina, H2B-mCherry: Posizione/Gene: 1..589 / Pcmv, 652..1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR
Viruses	Negativo per HIV, HBV e HCV.
Products	Promotore CMV, Istone H2B, Neomicina, Fosfotrasferasi

Manipolazione

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO ₃ , w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 ore
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Cellule HK EGFP-alfa-tubulina/H2B-mCherry | 300670

Split ratio Si raccomanda un rapporto di 1:3

Seeding density 1×10^4 cellule/cm²

Fluid renewal da 2 a 3 volte alla settimana

Post-Thaw Recovery Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5×10^4 cellule/cm² e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Cellule HK EGFP-alfa-tubulina/H2B-mCherry | 300670

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating Nessuno

Freezing Procedure Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.