Product sheet

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

Generell informasjon

Description	HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry HeLa Kyoto-cellelinjen er en omhyggelig konstruert modell som er designet for detaljert visualisering av cellulære prosesser. Denne klonale linjen er stabilt transfektert for å uttrykke to fluorescerende proteinfusjoner som muliggjør sanntidsavbildning av både kromatin og det mikrotubulære nettverket. Det røde fluorescerende proteinet mCherry er fusjonert med kjernehistonproteinet H2B, noe som gir H2B-mCherry. Dette fusjonsproteinet uttrykkes fra pH2B-mCherry-IRES-neo3-plasmidet og fungerer som en kromatinmarkør som fremhever kjerne-DNA i levende celleavbildning og muliggjør studier av kromatindynamikk og kjernearkitektur. I tillegg uttrykker denne cellelinjen monomert GFP (Green Fluorescent Protein) fusjonert til α-tubulin, introdusert via pmEGFP-α-tubulin-IRES-puro2b-plasmidet. GFP-α-tubulin-fusjonen gir en levende grønn fluorescens som skisserer mikrotubuli-strukturene i cellen. Denne egenskapen er avgjørende for å studere mikrotubuliorganisering, dynamikk og deres rolle i celledeling og intracellulær transport. Den stabile integrasjonen av disse konstruksjonene muliggjør kontinuerlig, langsiktig observasjon av disse cellulære komponentene uten behov for gjentatt transfeksjon, noe som reduserer variabiliteten og øker påliteligheten til de eksperimentelle resultatene. Seleksjon av legemiddelresistens etter transfeksjon sikrer stabilitet og ensartet uttrykk blant cellene i denne linjen.
Organism	Menneskelig
Tissue	Livmorhalsen
Disease	Karsinom
Synonyms	HeLa Kyoto EGFP-a-tubulin/H2B-mCherry, HeLa H2B-mRFP og mEGFP-alfa-tubulin

Kjennetegn

Age	30 år
Gender	Kvinne
Ethnicity	Afroamerikaner
Morphology	Epitel-lignende celler med mosaikksteinform
Growth properties	Monolag, vedheftende

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-linjen inneholder EGFP-α-tubulin- og H2B-mCherry-konstruksjoner for samtidig avbildning av mikrotubuli og kromatin. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Protein expression	EGFP-alfa-tubulin, H2B-mCherry: Plassering/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, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO3, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 timer
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

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

Split ratio	Et forhold på 1:3 anbefales
Seeding density	1 x 10^4 celler/cm^2
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke
Post-Thaw Recovery	Etter tining, plasser cellene på 5 x 10^4 celler/cm^2 og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.
Thawing and Culturing Cells	1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport. 2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig. 3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen. 4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den. 5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig. 6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig. 7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst. 8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 %$_{CO2}$, befuktet atmosfære.

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

Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Shipping Conditions	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Storage Conditions	For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility	Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma. For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.