

Celule HK EGFP-alfa-tubulină/H2B-mCherry | 300670**Informații generale****Description**

Linia celulară HK EGFP-alfa-tubulină/H2B-mCherry HeLa Kyoto este un model meticulos conceput pentru vizualizarea detaliată a proceselor celulare. Această linie clonală a fost transfectată stabil pentru a exprima două fuziuni de proteine fluorescente care permit imagistica în timp real atât a cromatinei, cât și a rețelei microtubulare. Proteina fluorescentă roșie mCherry este fuzionată cu proteina histonă de bază H2B, creând H2B-mCherry. Această proteină de fuziune este exprimată din plasmidă pH2B-mCherry-IRES-neo3 și servește drept marker de cromatină, evidențiind ADN-ul nuclear în imagistica celulelor vii și facilitând studiile privind dinamica cromatinei și arhitectura nucleară.

În plus, această linie celulară exprimă GFP (proteină fluorescentă verde) monomerică îmbunătățită fuzionată cu α -tubulină, introdusă prin plasmida pmEGFP- α -tubulină-IRES-puro2b. Fuziunea GFP- α -tubulină oferă o fluorescență verde vie care conturează structurile microtubulare din celulă. Această caracteristică este esențială pentru studierea organizării și dinamicii microtubulilor și a rolului lor în diviziunea celulară și transportul intracelular. Integrarea stabilă a acestor construcții permite observarea continuă, pe termen lung, a acestor componente celulare fără a fi nevoie de transfecții repetate, reducând astfel variabilitatea și sporind fiabilitatea rezultatelor experimentale. Selecția rezistenței la medicamente în urma transfecției asigură stabilitatea și uniformitatea expresiei în rândul celulelor din această linie.

Organism

Om

Tissue

Cervix

Disease

Carcinom

SynonymsHeLa Kyoto EGFP- α -tubulină/H2B-mCherry, HeLa H2B-mRFP și mEGFP-alfa-tubulină**Caracteristici****Age**

30 de ani

Gender

Femei

Ethnicity

African american

Morphology

Celule de tip epitelial cu formă de piatră mozaicată

Growth properties

Monostrat, aderent

Date de reglementare

Celule HK EGFP-alfa-tubulină/H2B-mCherry | 300670

Citation	HK EGFP-alfa-tubulină/H2B-mCherry (număr de catalog Cytion 300670)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_L802
Depositor	Laboratorul Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Această linie HeLa Kyoto conține constructe EGFP- α -tubulină și H2B-mCherry pentru imagistica simultană a microtubulilor și cromatinei. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.

Date biomoleculare

Protein expression	EGFP-alfa-tubulină, H2B-mCherry: Locație/Gene: 1..589 / Pcmv, 652..1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR
Viruses	Negativ pentru HIV, VHB și VHC.
Products	CMV Promotor, Histona H2B, Neomicină, Fosfotransferază

Manipulare

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 de ore
Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.

Celule HK EGFP-alfa-tubulină/H2B-mCherry | 300670

Seeding density 1×10^4 celule/cm²

Fluid renewal de 2 până la 3 ori pe săptămână

Post-Thaw Recovery După decongelare, plasați celulele la 5×10^4 celule/cm² și lăsați-le să se recupereze după procesul de congelare și să adere timp de cel puțin 24 de ore.

Freeze medium Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, atmosferă umidificată.

Celule HK EGFP-alfa-tubulină/H2B-mCherry | 300670

Flask Coating Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.