Product sheet

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

Splošne informacije

Description	Celična linija HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry HeLa Kyoto je skrbno izdelan model, namenjen podrobni vizualizaciji celičnih procesov. Ta klonska linija je bila stabilno transficirana za izražanje dveh fluorescenčnih proteinov, ki omogočata slikanje kromatina in mikrotubularnega omrežja v realnem času. Rdeči fluorescenčni protein mCherry je spojen z osrednjim histonskim proteinom H2B, tako da nastane H2B-mCherry. Ta fuzijski protein se izraža iz plazmida pH2B-mCherry-IRES-neo3 in služi kot označevalec kromatina, ki pri slikanju živih celic poudari jedrno DNK ter olajša študije dinamike kromatina in jedrne arhitekture. Poleg tega ta celična linija izraža monomerni okrepljeni GFP (zeleni fluorescenčni protein), spojen z α-tubulinom, ki je vnesen s plazmidom pmEGFP-α-tubulin-IRES-puro2b. Fuzija GFP-α-tubulina zagotavlja živo zeleno fluorescenco, ki opisuje strukture mikrotubulov v celici. Ta lastnost je ključna za preučevanje organizacije mikrotubulov, njihove dinamike in vloge pri celični delitvi in znotrajceličnem transportu. Stabilna integracija teh konstruktov omogoča neprekinjeno, dolgoročno opazovanje teh celičnih komponent brez potrebe po večkratni transfekciji, s čimer se zmanjša variabilnost in poveča zanesljivost eksperimentalnih rezultatov. Izbira odpornosti na zdravila po transfekciji zagotavlja stabilnost in enotnost izražanja med celicami v tej liniji.
Organism	Človek
Tissue	Maternični vrat
Disease	Karcinom
Synonyms	HeLa Kyoto EGFP-a-tubulin/H2B-mCherry, HeLa H2B-mRFP in mEGFP-alfa-tubulin

Značilnosti

Age	30 let
Gender	Ženske
Ethnicity	Afroameričan
Morphology	Epitelnim celicam podobne celice z obliko mozaičnih kamenčkov
Growth properties	Enoslojni, adherentni

Regulativni podatki

Citation	HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry (kataloška številka Cytion 300670)

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

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_L802
Depositor	Laboratorij Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Ta linija HeLa Kyoto vsebuje konstrukte EGFP-α-tubulin in H2B-mCherry za sočasno slikanje mikrotubulov in kromatina. Ta klasifikacija velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.

Biomolekularni podatki

Protein expression	EGFP-alfa-tubulin, H2B-mCherry: 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR
Viruses	Negativna za HIV, HBV in HCV.
Products	Promotor CMV, histon H2B, neomicin, fosfotransferaza

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 ur
Subculturing	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
Seeding density	1 x 10^4 celic/cm^2

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

Fluid renewal	2 do 3-krat na teden
Post-Thaw Recovery	Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5 x 10^4 cel^{ic}/cm^2 in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.
Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.
Thawing and Culturing Cells	1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature. 2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje. 3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica. 4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom. 5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte. 6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavrzite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča. 7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic. 8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 $\%_{CO2}$, vlažno ozračje.
Flask Coating	Nič

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

Freezing Procedure	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.
Shipping Conditions	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.
Storage Conditions	Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility	Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence. Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.