

Клітини вишні НК EGFP-альфа-тубулін/H2B-m | 300670

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія НК EGFP-альфа-тубулін/H2B-mCherry HeLa Kyoto - це ретельно розроблена модель, призначена для детальної візуалізації клітинних процесів. Ця клональна лінія була стабільно трансфікована для експресії двох флуоресцентних білків, які дозволяють візуалізувати хроматин та мікротрубочкову мережу в реальному часі. Червоний флуоресцентний білок mCherry зливається з основним гістонним білком H2B, утворюючи H2B-mCherry. Цей злитий білок експресується з плазміди pH2B-mCherry-IRES-neo3 і слугує маркером хроматину, виділяючи ядерну ДНК при візуалізації живих клітин і полегшуючи дослідження динаміки хроматину та ядерної архітектури.

Крім того, ця клітинна лінія експресує мономерний посилений GFP (зелений флуоресцентний білок), злитий з α -тубуліном, введений за допомогою плазміди pmEGFP- α -тубулін-IRES-puro2b. Злиття GFP- α -тубуліну з α -тубуліном забезпечує яскраву зелену флуоресценцію, яка окреслює структури мікротрубочок у клітині. Ця особливість має вирішальне значення для вивчення організації та динаміки мікротрубочок, їхньої ролі в клітинному поділі та внутрішньоклітинному транспорті. Стабільна інтеграція цих конструкцій дозволяє проводити безперервне довготривале спостереження за цими клітинними компонентами без необхідності повторної трансфекції, зменшуючи таким чином варіабельність і підвищуючи надійність експериментальних результатів. Відбір резистентності до лікарських препаратів після трансфекції забезпечує стабільність і однорідність експресії серед клітин цієї лінії.

Organism Людина

Tissue Шийка матки

Disease Карцинома

Synonyms HeLa Kyoto EGFP- α -тубулін/H2B-mCherry, HeLa H2B-mRFP та mEGFP-альфа-тубулін

Характеристики

Age 30 років

Gender Жінка

Ethnicity Афроамериканець

Morphology Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю

Growth properties Одношаровий, адгезійний

Нормативні дані

Клітини вишні НК EGFP-альфа-тубулін/H2B-m | 300670

Citation	НК EGFP-альфа-тубулін/H2B-mCherry (номер за каталогом Cytion 300670)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_L802
Depositor	Лабораторія Елленберга (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Ця лінія HeLa Kyoto містить конструкції EGFP- α -тубулін та H2B-mCherry для одночасного візуалізування мікротрубочок та хроматину. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині та може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Protein expression	EGFP-альфа-тубулін, H2B-mCherry: Розташування/ген: 1..589 / Pcmv, 652.1029 H2B, 1042.1752 / mCherry, 2983.3777 / KanR/NeoR
Viruses	Негативний на ВІЛ, ВГВ та ВГС.
Products	Промотор ЦМВ, гістон H2B, неоміцин, фосфотрансфераза

Обробка

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO ₃ , w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Doubling time	24 години
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Клітини вишні НК EGFP-альфа-тубулін/H2B-m | 300670

Seeding density 1×10^4 клітин/см²

Fluid renewal 2-3 рази на тиждень

Post-Thaw Recovery Після розморожування висійте клітини з щільністю 5×10^4 клітин/см² і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.

Freeze medium Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Клітини вишні НК EGFP-альфа-тубулін/H2B-m | 300670

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, волога атмосфера.

Flask Coating Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

Freezing Procedure Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.