

Tế bào HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry | 300670

Thông tin chung

Description

Dòng tế bào HeLa Kyoto được công trình hóa cẩn thận với gen HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry là một mô hình được thiết kế để quan sát chi tiết các quá trình tế bào. Dòng tế bào này đã được chuyển gen ổn định để biểu hiện hai protein huỳnh quang ghép nối, cho phép quan sát thời gian thực cả cấu trúc chromatin và mạng lưới vi ống. Protein huỳnh quang đỏ mCherry được ghép với protein histone lõi H2B, tạo thành H2B-mCherry. Protein ghép này được biểu hiện từ plasmid pH2B-mCherry-IRES-neo3 và hoạt động như một dấu hiệu chromatin, làm nổi bật DNA nhân trong hình ảnh tế bào sống và hỗ trợ nghiên cứu về động học chromatin và cấu trúc nhân.

Ngoài ra, dòng tế bào này biểu hiện protein GFP (Green Fluorescent Protein) đơn thể được ghép với α-tubulin, được đưa vào thông qua plasmid pmEGFP-α-tubulin-IRES-puro2b. Protein ghép GFP-α-tubulin cung cấp ánh sáng huỳnh quang xanh lá cây rực rỡ, phác họa cấu trúc vi ống trong tế bào. Tính năng này rất quan trọng cho việc nghiên cứu tổ chức, động học của vi ống và vai trò của chúng trong phân bào và vận chuyển nội bào. Sự tích hợp ổn định của các cấu trúc này cho phép quan sát liên tục, lâu dài các thành phần tế bào này mà không cần chuyển gen lặp lại, từ đó giảm biến động và nâng cao độ tin cậy của kết quả thí nghiệm. Lựa chọn kháng thuốc sau khi chuyển gen đảm bảo tính ổn định và đồng nhất của biểu hiện gen trong các tế bào của dòng này.

Organism

Con người

Tissue

Cổ tử cung

Disease

Ung thư biểu mô

Synonyms

HeLa Kyoto EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry, HeLa H2B-mRFP và mEGFP-alpha-tubulin

Đặc điểm

Age

30 năm

Gender

Nữ

Ethnicity

Người Mỹ gốc Phi

Morphology

Tế bào có hình dạng giống biểu mô với cấu trúc dạng đá mozaic

Growth properties

Lớp đơn, bám dính

Dữ liệu quy định

Citation

HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry (Số catalog của Cytion: 300670)

Tế bào HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry | 300670

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_L802
Depositor	Phòng thí nghiệm Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Dòng tế bào HeLa Kyoto này chứa các cấu trúc EGFP- α -tubulin và H2B-mCherry để quan sát đồng thời vi ống và chromatin. Phân loại này chỉ áp dụng trong phạm vi Đức và có thể khác nhau ở các khu vực khác.

Dữ liệu sinh học phân tử

Protein expression	EGFP-alpha-tubulin, H2B-mCherry: Vị trí/Gen: 1..589 / Pcmv, 652..1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR
Viruses	Âm tính với HIV, viêm gan B (HBV) và viêm gan C (HCV).
Products	CMV Promotor, Histone H2B, Neomycin, Phosphotransferase

Xử lý

Culture Medium	DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L NaHCO ₃ , chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)
Supplements	Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 giờ
Subculturing	Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.
Seeding density	1×10^4 tế bào/cm ²

Tế bào HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry | 300670**Fluid renewal** 2 đến 3 lần mỗi tuần**Post-Thaw Recovery** Sau khi rã đông, cấy tế bào với mật độ 5×10^4 tế bào/cm² và để tế bào phục hồi sau quá trình đông lạnh và bám dính ít nhất 24 giờ.**Freeze medium** Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.**Thawing and Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở 300 x g trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, môi trường ẩm.**Flask Coating** Không có

Tế bào HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry | 300670

Freezing Procedure

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196°C . Việc bảo quản ở -80°C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.