HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry

300670

GENERAL INFORMATION

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.

Tissue	Cổ tử cung
Disease	Ung thư biểu mô

Synonyms

- HeLa Kyoto EGFP-a-tubulin/H2B-mCherry
- HeLa H2B-mRFP and mEGFP-alpha-tubulin

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

GMO-S1: This HeLa Kyoto line contains EGFP-α-tubulin and H2B-mCherry constructs for simultaneous imaging of microtubules and chromatin. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	Tế bào có hình dạng giống biểu mô với cấu trúc dạng đá mozaic
Doubling time	24 giờ

IDENTIFIERS

Citation

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

NCBI TaxID	9606

Cellosaurus	CVCL_L802
Depositor	Phòng thí nghiệm Ellenberg (EMBL)

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

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

HANDLING AND CULTURE

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)

Incubation atmosphere	37°C, 5%CO_2, môi trường ẩm.

Supplements

Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy

Dissociation reagent	Accutase

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
Fluid renewal	2 đến 3 lần mỗi tuần
Post-thaw recovery	Sau khi rã đông, cấy tế bào với mật độ 5 x 10^4 tế bào/cm^2 và để tế bào phục hồi sau quá trình đông lạnh và bám dính ít nhất 24 giờ.

Thawing and culturing

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

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.

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 cải thiện quá trình phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

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.

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.

DONOR

Donor age	30 năm
Ethnicity	Người Mỹ gốc Phi

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Khi lập kế hoạch lưu trữ ống cryovial trong nitơ lỏng để rã đông sau này, việc tuân thủ các biện pháp an toàn nghiêm ngặt là bắt buộc. Găng tay và quần áo bảo hộ phù hợp là điều cần thiết, và việc sử dụng khẩu trang hoặc kính bảo hộ là bắt buộc trong quá trình chuyển mẫu đông lạnh vào hoặc ra khỏi bể nitơ lỏng. Điều này nhằm giảm thiểu nguy cơ chấn thương do nổ ống cryovial khi lấy ra, có thể dẫn đến việc văng ra các mảnh vỡ sắc nhọn.

Warranty

Tại Cytion, chúng tôi cam kết về chất lượng và khả năng sống của các sản phẩm của mình.
Chúng tôi đảm bảo rằng các tế bào của chúng tôi sẽ có khả năng sống tại thời điểm bắt đầu nuôi cấy trong
60 ngày kể từ khi vận chuyển từ cơ sở của chúng tôi.
Chúng tôi cam kết rằng tất cả các vật liệu tuân thủ các thông số kỹ thuật được mô tả trong
Giấy chứng nhận phân tích và/hoặc Tài liệu sản phẩm.
Để biết chi tiết đầy đủ, vui lòng tham khảo
<a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Tuyên bố Bảo hành.

Third-party agreements apply	Yes