HK EGFP-алфа-тубулин/H2B-mCherry

300670

ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

Описание

Клетъчната линия HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry HeLa Kyoto е внимателно разработен модел, предназначен за подробно визуализиране на клетъчните процеси. Тази клонова линия е стабилно трансфектирана, за да експресира два флуоресцентни протеина, които позволяват визуализиране в реално време както на хроматина, така и на микротубулната мрежа. Червеният флуоресцентен протеин mCherry е слят с основния хистонов протеин H2B, създавайки H2B-mCherry. Този фюзионен протеин се експресира от плазмида pH2B-mCherry-IRES-neo3 и служи като хроматинов маркер, като подчертава ядрената ДНК при изобразяване на живи клетки и улеснява изследванията на динамиката на хроматина и ядрената архитектура.
Освен това тази клетъчна линия експресира мономерен усилен GFP (зелен флуоресцентен протеин), свързан с α-тубулин, въведен чрез плазмида pmEGFP-α-tubulin-IRES-puro2b. Сливането на GFP-α-тубулин осигурява ярка зелена флуоресценция, която очертава микротубулните структури в клетката. Тази характеристика е от решаващо значение за изучаване на организацията на микротубулите, тяхната динамика и ролята им в клетъчното делене и вътреклетъчния транспорт. Стабилното интегриране на тези конструкти позволява непрекъснато, дългосрочно наблюдение на тези клетъчни компоненти без необходимост от повторна трансфекция, като по този начин се намалява променливостта и се повишава надеждността на експерименталните резултати. Селекцията на лекарствена резистентност след трансфекция гарантира стабилността и еднаквостта на експресията сред клетките в тази линия.

Тъкан	Цервикс
Заболяване	Карцином

Синоними

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

КЛАСИФИКАЦИЯ

Организъм	Човек
Секс	Женски
Свойства, свързани с растежа	Привърженик
Статус на ГМО	GMO-S1

Подробности относно статуса на ГМО

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.

Ниво на биологична безопасност	1

ХАРАКТЕРИСТИКИ

Морфология	Епителиални клетки с форма на мозаечно камъче
Време за удвояване	24 часа

ИДЕНТИФИКАТОРИ

Източник

HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry (каталожен номер 300670 на Cytion)

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

Данъчен идентификационен номер в NCBI	9606
Целозавър	CVCL_L802
Вложител	Лабораторията на Елънбърг (EMBL)

ПРОЯВА И ПРЕДРАЗПОЛОЖЕНОСТ

Експресия на протеини

EGFP-алфа-тубулин, H2B-mCherry: Местоположение/ген: 1..589 / Pcmv, 652..1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR

Вируси

Отрицателни за HIV, HBV и HCV.

Продукти

CMV Promotor, хистон H2B, неомицин, фосфотрансфераза

ОБРАБОТКА И ОТГЛЕЖДАНЕ

Хранителна среда

DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)

Атмосфера за инкубация	37°C, 5%CO2, овлажнена атмосфера.

Добавки

Допълнете средата с 10% FBS

Реагент за дисоциация	Accutase

Пресаждане

Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Плътност на засяването	1 x 10^4 клетки/cm^2
Обновяване на течността	2 до 3 пъти седмично
Възстановяване след размразяване	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5 x 10^4 клетки/cm^2 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Размразяване и култивиране

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.

КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО И КРИОКОНСЕРВАЦИЯ

Стерилност

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.
За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

Среда за замразяване	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Условия за съхранение

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Условия за доставка

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

ДАРИТЕЛ

Възраст на донора	30 години
Етническа принадлежност	Афроамериканец

ПРАВНИ ВЪПРОСИ И БЕЗОПАСНОСТ

Мерки за безопасност

Когато планирате да съхранявате криопрепарат в течен азот за бъдещо размразяване, е задължително да спазвате строги мерки за безопасност. Подходящите защитни ръкавици и облекло са от съществено значение, а по време на прехвърлянето на замразени проби към или от резервоара с течен азот е необходимо да се използва маска за лице или предпазни очила. Това се прави, за да се намали рискът от нараняване от потенциални експлозии на криовиолите при изваждането им, които могат да доведат до изхвърляне на остри фрагменти.

Гаранция

Ние в Cytion заставаме зад качеството и жизнеспособността на нашите продукти.
Гарантираме, че нашите клетки ще бъдат жизнеспособни в началото на култивирането в продължение на 60 дни след изпращането им от нашите съоръжения.
Гарантираме, че всички материали отговарят на спецификациите, описани в сертификата за анализ и/или продуктовата листа
За пълни подробности, моля, направете справка с нашата <a href=""/Кои сме ние/Гаранция/"" hreflang=""x-default"">Гаранционна декларация

Прилагат се споразумения с трети страни	Yes