HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry

300670

OBECNÉ INFORMACE

Popis

Buněčná linie HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry HeLa Kyoto je pečlivě navržený model určený pro detailní vizualizaci buněčných procesů. Tato klonální linie byla stabilně transfekována tak, aby exprimovala dvě fluorescenční proteinové fúze, které umožňují zobrazování chromatinu i mikrotubulární sítě v reálném čase. Červený fluorescenční protein mCherry je fúzován se základním histonovým proteinem H2B, čímž vzniká H2B-mCherry. Tento fúzní protein je exprimován z plasmidu pH2B-mCherry-IRES-neo3 a slouží jako chromatinový marker, který zvýrazňuje jadernou DNA při zobrazování v živých buňkách a usnadňuje studie dynamiky chromatinu a jaderné architektury.
Kromě toho tato buněčná linie exprimuje monomerní zesílený GFP (zelený fluorescenční protein) fúzovaný s α-tubulinem, který byl zaveden prostřednictvím plazmidu pmEGFP-α-tubulin-IRES-puro2b. Fúze GFP-α-tubulinu poskytuje živou zelenou fluorescenci, která obkresluje mikrotubulární struktury v buňce. Tato vlastnost je klíčová pro studium organizace mikrotubulů, jejich dynamiky a úlohy při dělení buněk a vnitrobuněčném transportu. Stabilní integrace těchto konstruktů umožňuje nepřetržité a dlouhodobé pozorování těchto buněčných složek bez nutnosti opakované transfekce, čímž se snižuje variabilita a zvyšuje spolehlivost experimentálních výsledků. Selekce lékové rezistence po transfekci zajišťuje stabilitu a jednotnost exprese mezi buňkami této linie.

Tkáň	Cervix
Nemoc	Karcinom

Synonyma

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

KLASIFIKACE

Organismus	Člověk
Sex	Žena
Růstové vlastnosti	Přívrženec
Stav GMO	GMO-S1

Podrobnosti o statusu GMO

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.

Úroveň biologické bezpečnosti	1

CHARAKTERISTIKA

Morfologie	Buňky podobné epitelu s mozaikovitým tvarem kamínků
Doba zdvojnásobení	24 hodin

IDENTIFIKÁTORY

Citace

HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry (katalogové číslo Cytion 300670)

Daňové identifikační číslo NCBI	9606

Cellosaurus	CVCL_L802
Vkladatel	Ellenbergova laboratoř (EMBL)

EXPRESE A NÁCHYLNOST

Exprese proteinů

EGFP-alfa-tubulin, H2B-mCherry: 1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR

Viry

Negativní na HIV, HBV a HCV.

Produkty

Promotor CMV, histon H2B, neomycin, fosfotransferáza

MANIPULACE A CHOV

Pěstovací médium

DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Inkubační atmosféra	37 °C, 5 %CO2, zvlhčená atmosféra.

Doplňky stravy

Doplňte médium o 10% FBS

Disociační činidlo	Accutase

Subkultivace

Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Hustota výsevu	1 x 10^4 buněk/cm^2
Obnova tekutin	2 až 3krát týdně
Zotavení po rozmrazení	Po rozmrazení naneste buňky v množství 5 x 10^4 buněk/cm^2 a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.

Rozmrazování a kultivace

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.

KONTROLA KVALITY A KRYOKONZERVACE

Sterilita

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Mrazicí médium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Podmínky skladování

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Dopravní podmínky

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

DÁRCE

Věk dárce	30 let
Etnická příslušnost	Afroameričan

PRÁVNÍ INFORMACE A BEZPEČNOSTNÍ POKYNY

Bezpečnostní opatření

Při plánování uložení kryovialu v kapalném dusíku pro budoucí rozmrazení je nutné dodržovat přísná bezpečnostní opatření. Nezbytné jsou vhodné ochranné rukavice a oděv a při přenášení zmrazených vzorků do nádrže s kapalným dusíkem nebo z ní je nutné používat obličejovou masku nebo ochranné brýle. To proto, aby se snížilo riziko zranění v důsledku možných výbuchů kryovialů při jejich vyjímání, které mohou mít za následek vystřelování ostrých úlomků.

Záruka

Ve společnosti Cytion si stojíme za kvalitou a životaschopností našich produktů.
Zaručujeme, že naše buňky budou životaschopné na začátku kultivace po dobu 60 dnů po odeslání z našich zařízení.
Zaručujeme, že všechny materiály odpovídají specifikacím popsaným v certifikátu analýzy a/nebo v produktovém listu
Úplné informace naleznete v našem <a href=""/Kdo-jsme/Záruka/"" hreflang=""x-default"">Záručním prohlášení

Platí smlouvy s třetími stranami	Yes