HK EGFP-Alpha-Tubulin/H2B-mCherry

300670

ALLGEMEINE INFORMATIONEN

Beschreibung

Die HK EGFP-alpha-Tubulin/H2B-mCherry HeLa Kyoto-Zelllinie ist ein sorgfältig entwickeltes Modell zur detaillierten Visualisierung zellulärer Prozesse. Diese klonale Linie wurde stabil transfiziert, um zwei fluoreszierende Proteinfusionen zu exprimieren, die eine Echtzeit-Darstellung sowohl des Chromatins als auch des Mikrotubuli-Netzwerks ermöglichen. Das rot fluoreszierende Protein mCherry ist mit dem Histon-Kernprotein H2B fusioniert, wodurch H2B-mCherry entsteht. Dieses Fusionsprotein wird vom pH2B-mCherry-IRES-neo3-Plasmid exprimiert und dient als Chromatinmarker, der die Kern-DNA bei der Bildgebung in lebenden Zellen hervorhebt und Untersuchungen zur Chromatindynamik und Kernarchitektur erleichtert.
Zusätzlich exprimiert diese Zelllinie monomeres verstärktes GFP (Green Fluorescent Protein), das mit α-Tubulin fusioniert ist und über das pmEGFP-α-Tubulin-IRES-puro2b-Plasmid eingeführt wurde. Die GFP-α-Tubulin-Fusion liefert eine lebhafte grüne Fluoreszenz, die die Mikrotubuli-Strukturen in der Zelle erkennen lässt. Diese Eigenschaft ist entscheidend für die Untersuchung der Mikrotubuli-Organisation und -Dynamik sowie ihrer Rolle bei der Zellteilung und dem intrazellulären Transport. Die stabile Integration dieser Konstrukte ermöglicht eine kontinuierliche Langzeitbeobachtung dieser zellulären Komponenten, ohne dass eine wiederholte Transfektion erforderlich ist, wodurch die Variabilität verringert und die Zuverlässigkeit der Versuchsergebnisse erhöht wird. Die Selektion auf Medikamentenresistenz nach der Transfektion gewährleistet die Stabilität und Einheitlichkeit der Expression in den Zellen dieser Linie.

Gewebe	Gebärmutterhals
Krankheit	Karzinom

Synonyme

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

KLASSIFIZIERUNG

Organismus	Mensch
Sex	Weiblich
Wachstumseigenschaften	Anhänger
GVO-Status	GMO-S1

Angaben zum GVO-Status

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.

Biologische Sicherheitsstufe	1

MERKMALE

Morphologie	Epithelähnliche Zellen mit mosaikartiger Steinform
Verdopplungszeit	24 Stunden

BEZEICHNER

Quellenangabe

HK EGFP-alpha-Tubulin/H2B-mCherry (Cytion Katalognummer 300670)

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

NCBI-Steuer-ID	9606
Cellosaurus	CVCL_L802
Einleger	Das Ellenberg-Labor (EMBL)

EXPRESSION UND ANFÄLLIGKEIT

Proteinexpression

EGFP-alpha-Tubulin, H2B-mCherry: Standort/Gen: 1..589 / Pcmv, 652..1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR

Viren

Negativ für HIV, HBV und HCV.

Produkte

CMV-Promotor, Histon H2B, Neomycin, Phosphotransferase

HANDHABUNG UND KULTUR

Nährmedium

DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)

Inkubationsatmosphäre	37°C, 5%CO2, befeuchtete Atmosphäre.

Nahrungsergänzungsmittel

Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS

Dissoziationsreagenz	Accutase

Subkultivierung

Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Aussaatdichte	1 x 10^4 Zellen/cm^2
Flüssigkeitswechsel	2 bis 3 Mal pro Woche
Erholung nach dem Auftauen	Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5 x 10^4 Zellen/cm^2 ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhärieren lassen.

Auftauen und Kultivierung

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.

QUALITÄTSKONTROLLE UND KRYOKONSERVIERUNG

Sterilität

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.
Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

Gefriermedium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Lagerbedingungen

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Versandbedingungen

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

SPENDER

Alter des Spenders	30 Jahre
Ethnische Zugehörigkeit	Afroamerikaner

RECHTLICHES UND SICHERHEIT

Sicherheitshinweise

Wenn Sie planen, ein Kryovial in flüssigem Stickstoff zu lagern, um es später aufzutauen, müssen Sie strenge Sicherheitsmaßnahmen einhalten. Geeignete Schutzhandschuhe und -kleidung sind unerlässlich, und beim Transfer der gefrorenen Proben in den oder aus dem Flüssigstickstofftank ist das Tragen einer Gesichtsmaske oder einer Schutzbrille erforderlich. Damit soll die Verletzungsgefahr durch mögliche Explosionen der Kryovials bei der Entnahme, die zum Herausschleudern von scharfen Fragmenten führen können, verringert werden.

Garantie

Bei Cytion stehen wir hinter der Qualität und Lebensfähigkeit unserer Produkte.
Wir garantieren, dass unsere Zellen zu Beginn der Kultur für 60 Tage nach dem Versand aus unseren Einrichtungen lebensfähig sind.
Wir versichern, dass alle Materialien mit den im Analysezertifikat und/oder Produktblatt beschriebenen Spezifikationen übereinstimmen
Ausführliche Informationen finden Sie in unserer <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantieerklärung

Es gelten Vereinbarungen mit Dritten	Yes