HK EGFP-alfa-tubuliin/H2B-mCherry

300670

ÜLDINE TEAVE

Kirjeldus

HK EGFP-alfa-tubuliin/H2B-mCherry HeLa Kyoto rakuliin on hoolikalt loodud mudel, mis on loodud rakuprotsesside üksikasjalikuks visualiseerimiseks. See klooniline liin on stabiilselt transfekteeritud kahe fluorestseeruva valgu fusiooni ekspresseerimiseks, mis võimaldavad nii kromatiini kui ka mikrotubulaarvõrgustiku reaalajas pildistamist. Punane fluorestseeruv valk mCherry on fundeeritud histooni tuumvalguga H2B, luues H2B-mCherry. See fusioonvalk ekspresseeritakse pH2B-mCherry-IRES-neo3-plasmiidist ja see toimib kromatiini markerina, mis toob elusraku kujutamisel esile tuuma-DNA ja hõlbustab kromatiini dünaamika ja tuumaarhitektuuri uuringuid.
Lisaks ekspresseerib see rakuliin monomeerilist tugevdatud GFP-d (roheline fluorestseeruv valk), mis on fundeeritud α-tubuliiniga, mis on sisestatud pmEGFP-α-tubuliini-IRES-puro2b plasmiidi kaudu. GFP-α-tubuliini fusioon annab erksat rohelist fluorestsentsi, mis joonistab välja raku mikrotuubulite struktuurid. See omadus on oluline mikrotuubulite korralduse, dünaamika ja nende rolli uurimiseks raku jagunemisel ja rakusiseses transpordis. Nende konstruktsioonide stabiilne integreerimine võimaldab nende rakukomponentide pidevat ja pikaajalist jälgimist ilma korduva transfektsiooni vajaduseta, vähendades seeläbi varieeruvust ja suurendades katsetulemuste usaldusväärsust.
Ravimiresistentsuse valimine pärast transfektsiooni tagab selle liini rakkude stabiilsuse ja ühtlase ekspressiooni.

Kude	Emakakael
Haigus	Kartsinoom

Sünonüümid

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

KLASSIFIKATSIOON

Organism	Inimene
Sugu	Naine
Kasvuvõime	Järgija
GMO-staatus	GMO-S1

GMO-staatuse üksikasjad

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.

Bioloogilise ohutuse tase	1

OMADUSED

Morfoloogia	Epiteelilaadsed rakud, millel on mosaiikne kivikuju
Kahekordistumisaeg	24 tundi

TUNNUSED

Viide

HK EGFP-alfa-tubuliin/H2B-mCherry (Cytioni kataloginumber 300670)

NCBI maksukood	9606

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

Cellosaurus	CVCL_L802
Hoiustaja	Ellenbergi labor (EMBL)

AVALDUMINE JA VASTUVÕTLIKKUS

Valgu ekspressioon

EGFP-alfa-tubuliin, H2B-mCherry: Asukoht/geen: 1..589 / Pcmv, 652..1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR

Viirused

HIV, HBV ja HCV suhtes negatiivne.

Tooted

CMV Promotor, histoon H2B, neomütsiin, fosfotransferaas

KÄSITLEMINE JA KASVATAMINE

Kasvatuskeskkond

DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

Inkubatsiooni keskkond	37°C, 5%CO2, niisutatud atmosfäär.

Toidulisandid

Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissotsiatsioonireaktiiv	Accutase

Kultuuri edasikasvatamine

Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Külvitihedus	1 x 10^4 rakku/cm^2
Vedeliku vahetus	2 kuni 3 korda nädalas
Taastumine pärast sulamist	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5 x 10^4 rakku/cm^2 ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

Sulatamine ja kasvatamine

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.

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

KVALITEEDIKONTROLL JA KRÜOKONSERVEERIMINE

Viljatus

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.
Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

Külmutuskeskkond	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Säilitamistingimused

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Tarne- ja kohaletoimetamistingimused

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

ANNETAJA

Doonori vanus	30 aastat
Etniline kuuluvus	Afroameeriklane

ÕIGUSLIKUD JA OHUTUSALASED KÜSIMUSED

Ohutusnõuded

Kui plaanitakse krüoviaalide säilitamist vedelas lämmastikus tulevase sulatamise eesmärgil, on kohustuslik järgida rangeid ohutusmeetmeid. Asjakohased kaitsekindad ja -riietus on hädavajalikud ning külmutatud proovide vedela lämmastiku mahutisse või mahutist väljaviimisel tuleb kasutada näomaski või kaitseprille. See on vajalik selleks, et vähendada vigastuste ohtu, mis tuleneb võimalikest krüoviaalide plahvatustest eemaldamisel, mille tagajärjel võivad välja paiskuda teravad killud.

Garantii

Cytion seisab oma toodete kvaliteedi ja elujõulisuse eest.
Me garanteerime, et meie rakud on elujõulised kasvatamise alguses 60 päeva jooksul pärast meie rajatistest saatmist.
Tagame, et kõik materjalid vastavad analüüsisertifikaadis ja/või tootelehel kirjeldatud spetsifikatsioonidele
Täielikke üksikasju leiate meie <a href="""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang="""x-default"">Tagatise avaldusest

Kehtivad kolmandate osapooltega sõlmitud lepingud	Yes

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