HK EGFP-alfa-tubuliini/H2B-mCherry

300670

YLEISTÄ TIETOA

Kuvaus

HK EGFP-alfa-tubuliini/H2B-mCherry HeLa Kyoto -solulinja on huolellisesti suunniteltu malli, joka on suunniteltu soluprosessien yksityiskohtaiseen visualisointiin. Tämä kloonilinja on transfektoitu vakaasti ilmentämään kahta fluoresoivaa proteiinifuusiota, jotka mahdollistavat sekä kromatiinin että mikrotubulaarisen verkoston reaaliaikaisen kuvantamisen. Punainen fluoresoiva proteiini mCherry on fuusioitu histonin ydinproteiiniin H2B:hen, jolloin syntyy H2B-mCherry. Tämä fuusioproteiini ilmentyy pH2B-mCherry-IRES-neo3-plasmidista, ja se toimii kromatiinin merkkiaineena, joka korostaa ydin-DNA:ta elävässä solukuvauksessa ja helpottaa kromatiinin dynamiikan ja ydinarkkitehtuurin tutkimista.
Lisäksi tämä solulinja ilmentää α-tubuliiniin fuusioitunutta monomeerista tehostettua GFP:tä (vihreä fluoresoiva proteiini), joka on tuotu pmEGFP-α-tubuliini-IRES-puro2b-plasmidilla. GFP-α-tubuliinifuusio tuottaa elinvoimaista vihreää fluoresenssia, joka hahmottaa mikrotubulusten rakenteet solussa. Tämä ominaisuus on ratkaisevan tärkeä tutkittaessa mikrotubulusten järjestäytymistä, dynamiikkaa ja niiden roolia solun jakautumisessa ja solunsisäisessä kuljetuksessa. Näiden konstruktioiden vakaa integrointi mahdollistaa näiden solun komponenttien jatkuvan ja pitkäaikaisen havainnoinnin ilman toistuvaa transfektiota, mikä vähentää vaihtelua ja parantaa kokeellisten tulosten luotettavuutta. Transfektion jälkeinen lääkeresistenssivalinta varmistaa ekspression vakauden ja yhdenmukaisuuden tämän linjan solujen välillä.

Kudos	Kohdunkaula
Sairaus	Syöpä

Synonyymit

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

LUOKITTELU

Organismi	Ihminen
Sukupuoli	Nainen
Kasvuominaisuudet	Kiinnittynyt
GMO-status	GMO-S1

GMO-statuksen tiedot

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.

Bioturvallisuustaso	1

OMINAISUUDET

Morfologia	Epiteelin kaltaiset solut, joilla on mosaiikkimaisen kiven muotoinen rakenne
Kaksinkertaistumisaika	24 tuntia

TUNNISTEET

Lähdeviite

HK EGFP-alfa-tubuliini/H2B-mCherry (Cytionin luettelonumero 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-verotunnus	9606
Cellosaurus	CVCL_L802
Tallettaja	Ellenbergin laboratorio (EMBL)

ILMENTYMINEN JA ALTTIUS

Proteiinin ilmentyminen

EGFP-alfa-tubuliini, H2B-mCherry: 589 / Pcmv, 652..1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR

Virukset

HIV-, HBV- ja HCV-negatiivinen.

Tuotteet

CMV-promoottori, histoni H2B, neomysiini, fosfotransferaasi, fosfotransferaasi

KÄSITTELY JA VILJELY

Viljelyalusta

DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

Inkubaatioilma	37 °C, 5 %CO2, kostutettu ilmakehä.

Ravintolisät

Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissosiaatioreagenssi	Accutase

Soluviljely

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Kylvötiheys	1 x 10^4 solua/cm^2
Nesteen uusiminen	2-3 kertaa viikossa
Sulamisen jälkeinen palautuminen	Sulattamisen jälkeen levitä solut 5 x 10^4 solua/cm^2 ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

Sulatus ja viljely

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.

LAADUNVALVONTA JA KRYOSÄILYTYS

Hedelmättömyys

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.
Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

Jäädytysaine	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Säilytysolosuhteet

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Toimitusehdot

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

LAHJOITTAJA

Luovuttajan ikä	30 vuotta
Etnisyys	Afroamerikkalainen

OIKEUDELLISET JA TURVALLISUUSASIAT

Turvallisuusohjeet

Kun suunnitellaan kryoputken säilyttämistä nestemäisessä typessä sulatusta varten, on noudatettava tiukkoja turvatoimenpiteitä. Asianmukaiset suojakäsineet ja -vaatteet ovat välttämättömiä, ja kasvonaamarin tai suojalasien käyttö on välttämätöntä siirrettäessä jäädytettyjä näytteitä nestetyppisäiliöön tai siitä pois. Tällä pyritään pienentämään loukkaantumisriskiä, joka aiheutuu kryoputkien mahdollisista räjähdyksistä, jotka voivat aiheuttaa terävien sirpaleiden sinkoutumisen.

Takuu

Me Cytionilla seisomme tuotteidemme laadun ja elinkelpoisuuden takana.
Takaamme, että solumme ovat elinkelpoisia viljelyn alkaessa 60 päivän ajan sen jälkeen, kun ne on lähetetty laitoksestamme.
Vakuutamme, että kaikki materiaalit ovat analyysitodistuksessa ja/tai tuoteselosteessa kuvattujen eritelmien mukaisia
Lisätietoja on <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Takuulausumassa

Sovelletaan kolmansien osapuolten kanssa tehtyjä sopimuksia	Yes