HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry

300670

GENERAL INFORMATION

Description

הוא מודל שתוכנן בקפידה לצורך הדמיה מפורטת של תהליכים תאיים. קו תאים משובט HK EGFP-alpha-tubulin/H2B-mCherry HeLa Kyoto קו התאים זה עבר טרנספקציה יציבה כדי לבטא שני חלבונים פלואורסצנטיים משולבים המאפשרים הדמיה בזמן אמת של כרומטין ושל רשת המיקרו-צינורות. החלבון H2B-mCherry. ויוצר H2B, מתמזג עם חלבון ההיסטון mCherry הזוהר האדום pH2B-mCherry-IRES-neo3 חלבון מיזוג זה מבוטא מהפלסמיד ומשמש הגרעיני בהדמיה של תאים חיים ומקל על מחקרים על דינמיקת הכרומטין וארכיטקטורת הגרעין DNA-כסמן כרומטין, המדגיש את ה.
pmEGFP-α-tubulin, המוכנס באמצעות הפלסמיד α-tubulin משופר מונומרי הממוזג עם (חלבון פלואורסצנטי ירוק) GFP בנוסף, קו תאים זה מבטא מספק פלואורסצנטיות ירוקה עזה המתארת את מבני המיקרו-צינורות בתוך התא. תכונה זו חיונית GFP-α-tubulin המיזוג של tubulin-IRES-puro2b. לחקר ארגון המיקרוטובולים, הדינמיקה שלהם ותפקידם בחלוקת התאים ובהובלה התוך-תאית. השילוב היציב של מבנים אלה מאפשר תצפית רציפה וארוכת טווח על רכיבים תאיים אלה ללא צורך בהעברה חוזרת, ובכך מפחית את השונות ומשפר את אמינות תוצאות הניסוי. בחירת עמידות לתרופות לאחר ההעברה מבטיחה את היציבות והאחידות של הביטוי בין התאים בקו זה.

Tissue	צוואר הרחם
Disease	קרצינומה

Synonyms

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

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

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.

Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	תאים דמויי אפיתל בצורת אבן פסיפס
Doubling time	24 שעות

IDENTIFIERS

Citation

HK EGFP-אלפא-טובולין/H2B-mCherry (מספר קטלוגי Cytion 300670)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_L802

Depositor	מעבדת אלנברג (EMBL)

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

EGFP-אלפא-טובולין, H2B-mCherry: 589..1 :מיקום/גן / Pcmv, 652..1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR

Viruses

שלילי ל-HIV, HBV ו-HCV.

Products

CMV Promotor, היסטון H2B, ניאומיצין, פוספטטרנספראז

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

DMEM, w: 4.5 g/L גלוקוז, w: 4 mM L-גלוטמין, w: 3.7 g/L NaHCO3, w: 1.0 mM נתרן פירובט (מספר קטלוגי Cytion 820300a)

Incubation atmosphere	37°C, 5%CO2, אווירה לחה.

Supplements

FBS הוסף לתווך 10%

Dissociation reagent	אקוטאז

Subculturing

T75, ועבור בקבוקי PBS, השתמש ב-3-5 מ"ל T25, ללא סידן ומגנזיום. עבור בקבוקי PBS-הסר את המדיום הישן מהתאים הדבוקים ושטוף אותם ב-2.5 מ"ל עבור בקבוקי T25 תוך שימוש ב-1-2 מ"ל עבור בקבוקי Accutase-השתמש ב-5-10 מ"ל. לאחר מכן, כסה את התאים לחלוטין ב-T75. השאר את התאים לדגירה בטמפרטורת החדר למשך 8-10 דקות כדי לנתק אותם. לאחר הדגירה, ערבב בעדינות את התאים עם 10 מ"ל של מדיום כדי להחזיר אותם למשך 3 דקות. השלך את הנוזל העליון, החזר את התאים לתמיסה במדיום טרי והעבר אותם לצלחות חדשות בxg לתמיסה, ואז סובב בצנטריפוגה ב-300 שכבר מכילות מדיום טרי.

Seeding density	1×10^4 תאים/סמ"ר
Fluid renewal	עד 3 פעמים בשבוע 2
Post-thaw recovery	תאים/סמ"ר והניח לתאים להתאושש מתהליך ההקפאה 10^4 x לאחר ההפשרה, צלחת את התאים ב-5 ולהידבק למשך 24 שעות לפחות.

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

ושיטות זיהוי מיקופלסמה מבוססות לומניסצנציה PCR זיהום במיקופלסמה נשלל באמצעות בדיקות מבוססות.
כדי להבטיח שאין זיהום חיידקי, פטרייתי או שמרי, תרבויות התאים עוברות בדיקות ויזואליות יומיות.

Freeze medium	כדי להבטיח 10% DMSO + (FBS כולל) כמדיום לשימור בקירור, אנו משתמשים במדיום גידול מלא הכולל חומרים אוסמו- ,(Cytion 800100 מספר קטלוגי) CM-1 חיוניות נאותה לאחר ההפשרה, או מגנים ומייצבי מטבוליזם משופרים כדי לשפר את ההתאוששות ולהפחית את הלחץ הנגרם מהקפאה.

Storage conditions

לשימור לטווח ארוך, יש להניח את הבקבוקונים בחנקן נוזלי במצב של אדי בטמפרטורה של כ-150 עד 196 מעלות צלזיוס. אחסון בטמפרטורה של 80 מעלות צלזיוס מקובל רק כצעד ביניים קצר לפני העברה לחנקן נוזלי.

Shipping conditions

במהלך -Cשורות תאים שהוקפאו נשלחות בקרח יבש באריזה מאושרת ומבודדת עם כמות מספקת של חומר קירור כדי לשמור על טמפרטורה של כ-78°. ההובלה. עם קבלת המשלוח, יש לבדוק את המכל מיד ולהעביר את הבקבוקונים ללא דיחוי לאחסון מתאים.

DONOR

Donor age	שנה 30
Ethnicity	אפרו-אמריקאי

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

כאשר מתכננים לאחסן קריוביאל בחנקן נוזלי להפשרה עתידית, חובה להקפיד על אמצעי בטיחות מחמירים. יש להקפיד על שימוש בכפפות ובבגדים מגנים מתאימים, וכן על שימוש במסכת פנים או משקפי מגן בעת העברת דגימות קפואות אל מיכל החנקן הנוזלי או ממנו. זאת כדי להפחית את הסיכון לפציעה כתוצאה מפיצוץ אפשרי של הקריוביאל בעת הוצאתו, העלול לגרום להתזת רסיסים חדים.

Warranty

אנו עומדים מאחורי האיכות והכדאיות של המוצרים שלנו, ב-Cytion.
אנו מבטיחים שתאינו יהיו קיימים בתחילת התרבית למשך
60 יום לאחר המשלוח מהמתקנים שלנו.
אנו מבטיחים שכל החומרים תואמים למפרטים המתוארים
בתעודת הניתוח ו/או בדף המוצר.
לפרטים מלאים, אנא עיינו ב
הצהרת האחריות שלנו<a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">

Third-party agreements apply	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