HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry

300670

ÁLTALÁNOS INFORMÁCIÓK

Leírás

A HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry HeLa Kyoto sejtvonal egy aprólékosan megtervezett modell, amelyet a sejtfolyamatok részletes vizualizálására terveztek. Ezt a klonális vonalat stabilan transzfektálták, hogy két fluoreszcens fehérje fúziót expresszáljon, amelyek lehetővé teszik mind a kromatin, mind a mikrotubuláris hálózat valós idejű képalkotását. Az mCherry vörös fluoreszcens fehérjét a H2B központi hisztonfehérjéhez fuzionálták, létrehozva a H2B-mCherry-t. Ez a fúziós fehérje a pH2B-mCherry-IRES-neo3 plazmidból expresszálódik, és kromatin markerként szolgál, kiemelve a nukleáris DNS-t élősejtes képalkotásban, és megkönnyítve a kromatin dinamikájának és a nukleáris architektúrának a vizsgálatát.
Ezenkívül ez a sejtvonal α-tubulinhoz fuzionált monomerikus, fokozott GFP-t (zöld fluoreszcens fehérje) expresszál, amelyet a pmEGFP-α-tubulin-IRES-puro2b plazmidon keresztül juttatunk be. A GFP-α-tubulin fúzió élénk zöld fluoreszcenciát biztosít, amely kirajzolja a sejtben lévő mikrotubulus struktúrákat. Ez a tulajdonság kulcsfontosságú a mikrotubulusok szerveződésének, dinamikájának, valamint a sejtosztódásban és a sejten belüli transzportban betöltött szerepüknek a tanulmányozásához. E konstrukciók stabil integrációja lehetővé teszi e sejtkomponensek folyamatos, hosszú távú megfigyelését ismételt transzfekció nélkül, így csökkentve a variabilitást és növelve a kísérleti eredmények megbízhatóságát. A transzfekciót követő gyógyszerrezisztencia-szelekció biztosítja a stabilitást és az expresszió egységességét a sejtek között ebben a vonalban.

Szövet	Cervix
Betegség	Karcinóma

Szinonimák

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

OSZTÁLYOZÁS

Organizmus	Ember
Szex	Nő
Növekedési tulajdonságok	Hűséges
GMO-státusz	GMO-S1

A GMO-státuszra vonatkozó részletek

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.

Biológiai biztonsági szint	1

JELLEMZŐK

Morfológia	Epithelszerű, mozaikos kő alakú sejtek
Kettőzési idő	24 óra

AZONOSÍTÓK

Hivatkozás

HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry (Cytion katalógusszám: 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 adóazonosító szám	9606
Cellosaurus	CVCL_L802
Betétes	Az Ellenberg Labor (EMBL)

KIFEJEZŐDÉS ÉS FOGÉKONYSÁG

Fehérjeexpresszió

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

Vírusok

HIV, HBV és HCV negatív.

Termékek

CMV promotor, Hiszton H2B, neomicin, foszfotranszferáz, foszfotranszferáz

KEZELÉS ÉS TENYÉSZTÉS

Táptalaj

DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)

Inkubációs környezet	37°C, 5%CO2, párásított légkör.

Kiegészítők

A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Diszociációs reagens	Accutase

Átültetés

Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Ültetési sűrűség	1 x 10^4 sejt/cm^2
Folyadékcsere	hetente 2-3 alkalommal
Az olvadás utáni helyreállás	Felolvasztás után helyezze a sejteket 5 x 10^4 sejt/cm^2 sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.

Felolvasztás és tenyésztés

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.

MINŐSÉGELLENŐRZÉS ÉS KRIOKONZERVÁLÁS

Meddőség

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

Fagyasztóközeg	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Tárolási feltételek

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Szállítási feltételek

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

ADOMÁNYOZÓ

Az adományozó életkora	30 év
Etnikai hovatartozás	Afroamerikai

JOGI ÉS BIZTONSÁGI INFORMÁCIÓK

Biztonsági óvintézkedések

Ha egy kriovialitást folyékony nitrogénben tervezünk tárolni a későbbi kiolvasztás céljából, akkor kötelező betartani a szigorú biztonsági intézkedéseket. A megfelelő védőkesztyű és védőruházat elengedhetetlen, és a fagyasztott minták folyékony nitrogéntartályba vagy a folyékony nitrogéntartályból történő átvitele során arcmaszk vagy védőszemüveg használata szükséges. Ez azért van, hogy csökkentsék a kriovialis anyagok eltávolításakor bekövetkező esetleges robbanásból eredő sérülésveszélyt, amely éles szilánkok kilövellését eredményezheti.

Garancia

A Cytionnál kiállunk termékeink minősége és életképessége mellett.
Garantáljuk, hogy sejtjeink a tenyésztés megkezdésekor életképesek lesznek, a létesítményünkből történő kiszállítás után 60 napig.
Biztosítjuk, hogy minden anyag megfelel az analitikai tanúsítványban és/vagy a terméklapon leírt specifikációknak
A teljes részleteket lásd <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Garancia nyilatkozatunkban

Harmadik felekkel kötött megállapodások érvényesek	Yes