HK EGFP-alfa-tubulina/H2B-mCherry

300670

INFORMAZIONI GENERALI

Descrizione

La linea cellulare HK EGFP-alfa-tubulina/H2B-mCherry HeLa Kyoto è un modello meticolosamente progettato per la visualizzazione dettagliata dei processi cellulari. Questa linea clonale è stata trasfettata in modo stabile per esprimere due fusioni di proteine fluorescenti che consentono di visualizzare in tempo reale sia la cromatina che la rete microtubulare. La proteina fluorescente rossa mCherry è fusa con la proteina istone H2B, creando H2B-mCherry. Questa proteina di fusione è espressa dal plasmide pH2B-mCherry-IRES-neo3 e serve come marcatore della cromatina, evidenziando il DNA nucleare nell'imaging delle cellule vive e facilitando gli studi sulla dinamica della cromatina e sull'architettura nucleare.
Inoltre, questa linea cellulare esprime GFP (Green Fluorescent Protein) monomerica potenziata fusa con α-tubulina, introdotta tramite il plasmide pmEGFP-α-tubulina-IRES-puro2b. La fusione GFP-α-tubulina fornisce una fluorescenza verde vivida che delinea le strutture dei microtubuli all'interno della cellula. Questa caratteristica è fondamentale per studiare l'organizzazione e la dinamica dei microtubuli e il loro ruolo nella divisione cellulare e nel trasporto intracellulare. L'integrazione stabile di questi costrutti consente un'osservazione continua e a lungo termine di questi componenti cellulari senza la necessità di ripetere la trasfezione, riducendo così la variabilità e migliorando l'affidabilità dei risultati sperimentali. La selezione della resistenza ai farmaci dopo la trasfezione assicura la stabilità e l'uniformità dell'espressione tra le cellule di questa linea.

Tessuto	Cervice
Malattia	Carcinoma

Sinonimi

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

CLASSIFICAZIONE

Organismo	Umano
Sesso	Donna
Proprietà di crescita	Aderente
Presenza di OGM	GMO-S1

Dettagli sullo stato degli OGM

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.

Livello di biosicurezza	1

CARATTERISTICHE

Morfologia	Cellule simili a quelle epiteliali con forma di pietra a mosaico
Tempo di raddoppio	24 ore

IDENTIFICATORI

Riferimento bibliografico

HK EGFP-alfa-tubulina/H2B-mCherry (numero di catalogo Cytion 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

Codice fiscale NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_L802
Depositario	Il laboratorio Ellenberg (EMBL)

ESPRESSIONE E SUSCETTIBILITÀ

Espressione proteica

EGFP-alfa-tubulina, H2B-mCherry: Posizione/Gene: 1..589 / Pcmv, 652..1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR

Virus

Negativo per HIV, HBV e HCV.

Prodotti

Promotore CMV, Istone H2B, Neomicina, Fosfotrasferasi

MANIPOLAZIONE E COLTURA

Terreno di coltura

DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO3, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)

Atmosfera di incubazione	37°C, 5%CO2, atmosfera umidificata.

Integratori

Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

Reagente di dissociazione	Accutase

Subcoltura

Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Densità di semina	1 x 10^4 cellule/cm^2
Rinnovo dei fluidi	da 2 a 3 volte alla settimana
Recupero post-scongelamento	Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5 x 10^4 cellule/cm^2 e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.

Scongelamento e coltura

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.

CONTROLLO DI QUALITÀ E CRIOCONSERVAZIONE

Sterilità

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.
Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Terreno di coltura congelato	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Condizioni di conservazione

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Condizioni di spedizione

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

DONATORE

Età dei donatori	30 anni
Etnia	Afroamericano

ASPETTI LEGALI E DI SICUREZZA

Misure di sicurezza

Quando si prevede di conservare una crioviale in azoto liquido per un futuro scongelamento, è obbligatorio attenersi a rigorose misure di sicurezza. Guanti e indumenti protettivi appropriati sono essenziali e l'uso di una maschera facciale o di occhiali di sicurezza è richiesto durante il trasferimento dei campioni congelati da o verso il serbatoio di azoto liquido. Questo per ridurre il rischio di lesioni dovute a potenziali esplosioni di crioviali al momento della rimozione, che possono provocare la proiezione di frammenti taglienti.

Garanzia

Noi di Cytion garantiamo la qualità e la vitalità dei nostri prodotti.
Garantiamo che le nostre cellule saranno vitali all'inizio della coltura per 60 giorni dopo la spedizione dai nostri stabilimenti.
Assicuriamo che tutti i materiali sono conformi alle specifiche descritte nel Certificato di Analisi e/o nella Scheda Prodotto
Per tutti i dettagli, consultare la nostra <a href=""/Chi-siamo/Garanzia/"" hreflang=""x-default"">Dichiarazione di Garanzia

Si applicano gli accordi con terze parti	Yes