HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry

300670

GENERELL INFORMASJON

Beskrivelse

HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry HeLa Kyoto-cellelinjen er en omhyggelig konstruert modell som er designet for detaljert visualisering av cellulære prosesser. Denne klonale linjen er stabilt transfektert for å uttrykke to fluorescerende proteinfusjoner som muliggjør sanntidsavbildning av både kromatin og det mikrotubulære nettverket. Det røde fluorescerende proteinet mCherry er fusjonert med kjernehistonproteinet H2B, noe som gir H2B-mCherry. Dette fusjonsproteinet uttrykkes fra pH2B-mCherry-IRES-neo3-plasmidet og fungerer som en kromatinmarkør som fremhever kjerne-DNA i levende celleavbildning og muliggjør studier av kromatindynamikk og kjernearkitektur. I tillegg uttrykker denne cellelinjen monomert GFP (Green Fluorescent Protein) fusjonert til α-tubulin, introdusert via pmEGFP-α-tubulin-IRES-puro2b-plasmidet. GFP-α-tubulin-fusjonen gir en levende grønn fluorescens som skisserer mikrotubuli-strukturene i cellen. Denne egenskapen er avgjørende for å studere mikrotubuliorganisering, dynamikk og deres rolle i celledeling og intracellulær transport. Den stabile integrasjonen av disse konstruksjonene muliggjør kontinuerlig, langsiktig observasjon av disse cellulære komponentene uten behov for gjentatt transfeksjon, noe som reduserer variabiliteten og øker pålitelighetene til de eksperimentelle resultatene. Seleksjon av legemiddelresistens etter transfeksjon sikrer stabilitet og ensartet uttrykk blant cellene i denne linjen.

Vev	Livmorhalsen
Sykdom	Karsinom

Synonymer

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

KLASSIFISERING

Organisme	Menneske
Sex	Kvinne
Vekstegenskaper	Tilhenger
GMO-status	GMO-S1

Detaljer om GMO-status

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.

Biosikkerhetsnivå	1

EGENSKAPER

Morfologi	Epitel-lignende celler med mosaikksteinform
Fordoblingstid	24 timer

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry (Cytion katalognummer 300670)

NCBI-skattenummer	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
Innskjærer	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

UTTRYKK OG MOTTAKELIGHET

Proteinekspresjon

EGFP-alfa-tubulin, H2B-mCherry: Plassering/Gen: 1..589 / Pcmv, 652..1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR

Virus

Negativ for HIV, HBV og HCV.

Produkter

CMV-promotor, histon H2B, neomycin, fosfotransferase

HÅNDTERING OG KULTUR

Næringsmedium

DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO3, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)

Inkubasjonsatmosfære	37 °C, 5 %CO2, befuktet atmosfære.

Kosttilskudd

Suppler mediet med 10 % FBS

Dissosiasjonsmiddel	Accutase

Subkultivering

Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Såtetthet	1 x 10^4 celler/cm^2
Væskefornyelse	2 til 3 ganger per uke
Gjenoppretting etter tining	Etter tining, plasser cellene på 5 x 10^4 celler/cm^2 og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.

Tining og dyrking

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.

KVALITETSKONTROLL OG KRYOKONSERVERING

Sterilitet

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.
For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

Frysemedium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Oppbevaringsbetingelser

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Fraktvilkår

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

DONOR

Donorens alder	30 år
Etnisitet	Afroamerikaner

JURIDISK OG SIKKERHET

Sikkerhetsregler

Når du planlegger å oppbevare et kryovial i flytende nitrogen for senere tining, er det obligatorisk å følge strenge sikkerhetstiltak. Det er viktig å bruke egnede vernehansker og -klær, og det er påbudt å bruke ansiktsmaske eller vernebriller under overføring av frosne prøver til eller fra tanken med flytende nitrogen. Dette er for å redusere risikoen for skader som følge av potensielle kryovæskeeksplosjoner ved fjerning, noe som kan føre til at skarpe fragmenter slynges ut.

Garanti

Hos Cytion står vi bak kvaliteten og levedyktigheten til produktene våre.
Vi garanterer at cellene våre vil være levedyktige ved starten av dyrkingen i 60 dager etter at de er sendt fra våre anlegg.
Vi forsikrer at alle materialer er i samsvar med spesifikasjonene som er beskrevet i analysesertifikatet og/eller produktarket
For fullstendig informasjon, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Avtaler med tredjeparter gjelder	Yes