HK EGFP-alfa-tubuline/H2B-mCherry

300670

ALGEMENE INFORMATIE

Beschrijving

De HK EGFP-alpha-tubuline/H2B-mCherry HeLa Kyoto cellijn is een zorgvuldig ontworpen model ontworpen voor gedetailleerde visualisatie van cellulaire processen. Deze klonale lijn is stabiel getransfecteerd tot expressie twee fluorescerende eiwit fusies die real-time beeldvorming van zowel chromatine en de microtubulaire netwerk mogelijk te maken. Het rode fluorescerende eiwit mCherry is gefuseerd met het histon-eiwit H2B, waardoor H2B-mCherry ontstaat. Dit fusie-eiwit wordt tot expressie gebracht met het pH2B-mCherry-IRES-neo3 plasmide en dient als chromatinemarker, waarbij het nucleaire DNA in live-cel beeldvorming wordt gemarkeerd en studies naar chromatinedynamiek en nucleaire architectuur worden vergemakkelijkt.
Daarnaast brengt deze cellijn monomeer versterkt GFP (Green Fluorescent Protein) tot expressie, gefuseerd met α-tubuline, geïntroduceerd via het pmEGFP-α-tubuline-IRES-puro2b plasmide. De fusie van GFP-α-tubuline zorgt voor een levendige groene fluorescentie die de microtubulestructuren in de cel omlijnt. Deze eigenschap is cruciaal voor het bestuderen van de organisatie en dynamiek van microtubuli en hun rol in celdeling en intracellulair transport. De stabiele integratie van deze constructen maakt continue langetermijnobservatie van deze cellulaire componenten mogelijk zonder de noodzaak van herhaalde transfectie, waardoor de variabiliteit afneemt en de betrouwbaarheid van de experimentele resultaten toeneemt. Selectie op resistentie tegen medicijnen na transfectie zorgt voor stabiliteit en uniformiteit van expressie tussen de cellen in deze lijn.

Weefsel	Baarmoederhals
Ziekte	Carcinoom

Synoniemen

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

CLASSIFICATIE

Organisme	Mens
Seks	Vrouw
Groei-eigenschappen	Aanhanger
GGO-status	GMO-S1

Details over de GGO-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.

Bioveiligheidsniveau	1

KENMERKEN

Morfologie	Epitheelachtige cellen met mozaïeksteenvorm
Verdubbelingstijd	24 uur

IDENTIFICATIEGEGEVENS

Bronvermelding

HK EGFP-alfa-tubuline/H2B-mCherry (Cytion catalogusnummer 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-belastingnummer	9606
Cellosaurus	CVCL_L802
Inlegger	Het Ellenberg Lab (EMBL)

EXPRESSIE EN VATBAARHEID

Eiwit-expressie

EGFP-alfa-tubuline, H2B-mCherry: Locatie/gen: 1..589 / Pcmv, 652..1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR

Virussen

Negatief voor HIV, HBV en HCV.

Producten

CMV Promotor, Histon H2B, Neomycine, Fosfotransferase

BEHANDELING EN KWEEK

Kweekmedium

DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)

Incubatieomgeving	37°C, 5%CO2, bevochtigde atmosfeer.

Supplementen

Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociatiereagens	Accutase

Heruitplanten

Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Zaaidichtheid	1 x 10^4 cellen/cm^2
Vloeistofverversing	2 tot 3 keer per week
Herstel na ontdooiing	Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van 5 x 10^4 cellen/cm^2 en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.

Ontdooien en kweken

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.

KWALITEITSCONTROLE EN CRYOPRESERVATIE

Onvruchtbaarheid

Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.
Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

Kweekmedium invriezen	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Opslagvoorwaarden

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Verzendvoorwaarden

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

DONATEUR

Leeftijd van de donor	30 jaar
Etnische afkomst	Afro-Amerikaan

JURIDISCHE EN VEILIGHEIDSASPECTEN

Veiligheidsmaatregelen

Wanneer men van plan is om een cryovial in vloeibare stikstof op te slaan om later te ontdooien, is het verplicht om strenge veiligheidsmaatregelen in acht te nemen. Passende beschermende handschoenen en kleding zijn essentieel en het gebruik van een gezichtsmasker of veiligheidsbril is vereist tijdens het overbrengen van bevroren monsters naar of uit de tank met vloeibare stikstof. Dit is om het risico op letsel door mogelijke cryoviale explosies bij het verwijderen te beperken, wat kan resulteren in de projectie van scherpe fragmenten.

Garantie

Bij Cytion staan we achter de kwaliteit en levensvatbaarheid van onze producten.
We garanderen dat onze cellen levensvatbaar zijn bij het begin van de kweek gedurende 60 dagen na verzending vanuit onze faciliteiten.
We verzekeren dat alle materialen voldoen aan de specificaties beschreven in het analysecertificaat en/of productblad
Raadpleeg voor volledige informatie onze <a href=""/Wie-zijn-wij/Garantie/"" hreflang=""x-default"">Garantieverklaring

Er gelden overeenkomsten met derden	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