HK EGFP-alfa-tubulín/H2B-mCherry

300670

VŠEOBECNÉ INFORMÁCIE

Popis

Bunková línia HK EGFP-alfa-tubulín/H2B-mCherry HeLa Kyoto je starostlivo navrhnutý model určený na podrobnú vizualizáciu bunkových procesov. Táto klonálna línia bola stabilne transfekovaná na expresiu dvoch fluorescenčných proteínových fúzií, ktoré umožňujú zobrazovanie chromatínu a mikrotubulárnej siete v reálnom čase. Červený fluorescenčný proteín mCherry sa spája s hlavným histónovým proteínom H2B, čím vzniká H2B-mCherry. Tento fúzny proteín sa exprimuje z plazmidu pH2B-mCherry-IRES-neo3 a slúži ako chromatínový marker, ktorý zvýrazňuje jadrovú DNA pri zobrazovaní živých buniek a uľahčuje štúdie dynamiky chromatínu a jadrovej architektúry.
Okrem toho táto bunková línia exprimuje monomérny zosilnený GFP (zelený fluorescenčný proteín) fúzovaný s α-tubulínom, ktorý sa zavádza prostredníctvom plazmidu pmEGFP-α-tubulín-IRES-puro2b. Fúzia GFP-α-tubulínu poskytuje žiarivú zelenú fluorescenciu, ktorá obkresľuje mikrotubulárne štruktúry v bunke. Táto vlastnosť je kľúčová pre štúdium organizácie mikrotubulov, ich dynamiky a úlohy pri delení buniek a vnútrobunkovom transporte. Stabilná integrácia týchto konštruktov umožňuje nepretržité, dlhodobé pozorovanie týchto bunkových zložiek bez potreby opakovanej transfekcie, čím sa znižuje variabilita a zvyšuje spoľahlivosť experimentálnych výsledkov. Selekcia liekovej rezistencie po transfekcii zabezpečuje stabilitu a jednotnosť expresie medzi bunkami tejto línie.

Tkanivo	Cervix
Choroba	Karcinóm

Synonymá

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

KLASIFIKÁCIA

Organizmus	Človek
Sex	Žena
Rastové vlastnosti	Prívrženec
Stav GMO	GMO-S1

Podrobnosti o štatúte GMO

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.

Úroveň biologickej bezpečnosti	1

CHARAKTERISTIKY

Morfológia	Epitelové bunky s mozaikovým tvarom kameňa
Doba zdvojnásobenia	24 hodín

IDENTIFIKÁTORY

Citácia

HK EGFP-alfa-tubulín/H2B-mCherry (katalógové číslo Cytion 300670)

Daňové identifikačné číslo NCBI	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
Vkladateľ	Ellenbergova laboratória (EMBL)

PREJAV A NÁCHYLNOSŤ

Expresia proteínov

EGFP-alfa-tubulín, H2B-mCherry: Umiestnenie/gén: 1..589 / Pcmv, 652..1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR

Vírusy

Negatívne na HIV, HBV a HCV.

Produkty

CMV promotor, histón H2B, neomycín, fosfotransferáza

MANIPULÁCIA A KULTIVÁCIA

Kultivačné médium

DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Inkubačná atmosféra	37 °C, 5 %CO2, zvlhčená atmosféra.

Doplnky stravy

Doplňte médium o 10 % FBS

Disociačné činidlo	Accutase

Rozmnožovanie kultúr

Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstreďujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Hustota výsevu	1 x 10^4 buniek/cm^2
Obnova kvapaliny	2 až 3-krát týždenne
Zotavenie po rozmrazení	Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5 x 10^4 buniek/cm^2 a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

Rozmrazovanie a kultivácia

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.

KONTROLA KVALITY A KRYOKONZERVÁCIA

Sterilita

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Mrazové médium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Podmienky skladovania

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Dopravné podmienky

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

DARCA

Vek darcu	30 rokov
Etnická príslušnosť	Afroameričan

PRÁVNE INFORMÁCIE A BEZPEČNOSŤ

Bezpečnostné opatrenia

Pri plánovaní uskladnenia kryovírusu v kvapalnom dusíku na budúce rozmrazenie je potrebné dodržiavať prísne bezpečnostné opatrenia. Vhodné ochranné rukavice a odev sú nevyhnutné a počas prenosu zmrazených vzoriek do nádrže s tekutým dusíkom alebo z nej sa vyžaduje používanie tvárovej masky alebo ochranných okuliarov. Je to z dôvodu zníženia rizika poranenia v dôsledku možnej explózie kryovírusu pri vyberaní, ktorá môže mať za následok vymrštenie ostrých úlomkov.

Záruka

V spoločnosti Cytion si stojíme za kvalitou a životaschopnosťou našich produktov.
Garantujeme, že naše bunky budú životaschopné na začiatku kultivácie počas 60 dní po odoslaní z našich zariadení.
Zaručujeme, že všetky materiály zodpovedajú špecifikáciám opísaným v certifikáte analýzy a/alebo v produktovom liste
Úplné informácie nájdete v našom <a href=""/Kto sme/záruka/"" hreflang=""x-default"">Vyhlásení o záruke

Platia zmluvy s tretími stranami	Yes