HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry

300670

GENEL BILGILER

Açıklama

HK EGFP-alfa-tubulin/H2B-mCherry HeLa Kyoto hücre hattı, hücresel süreçlerin ayrıntılı görselleştirilmesi için titizlikle tasarlanmış bir modeldir. Bu klonal çizgi, hem kromatin hem de mikrotübüler ağın gerçek zamanlı görüntülenmesini sağlayan iki floresan protein füzyonunu ifade etmek için kararlı bir şekilde transfekte edilmiştir. Kırmızı floresan protein mCherry, çekirdek histon proteini H2B'ye kaynaştırılarak H2B-mCherry oluşturulur. Bu füzyon proteini pH2B-mCherry-IRES-neo3 plazmidinden ifade edilir ve canlı hücre görüntülemede nükleer DNA'yı vurgulayarak ve kromatin dinamikleri ve nükleer mimari üzerine çalışmaları kolaylaştırarak bir kromatin işaretleyici görevi görür.
Ek olarak, bu hücre hattı pmEGFP-α-tubulin-IRES-puro2b plazmidi aracılığıyla tanıtılan α-tubuline kaynaşmış monomerik geliştirilmiş GFP'yi (Yeşil Floresan Protein) ifade eder. GFP-α-tubulin füzyonu, hücre içindeki mikrotübül yapılarını özetleyen canlı bir yeşil floresan sağlar. Bu özellik, mikrotübül organizasyonu, dinamikleri ve bunların hücre bölünmesi ve hücre içi taşınmasındaki rollerini incelemek için çok önemlidir. Bu yapıların istikrarlı entegrasyonu, tekrarlanan transfeksiyona gerek kalmadan bu hücresel bileşenlerin sürekli ve uzun süreli gözlemlenmesine olanak tanıyarak değişkenliği azaltır ve deneysel sonuçların güvenilirliğini artırır. Transfeksiyonu takiben ilaç direnci seçimi, bu hattaki hücreler arasında ifadenin istikrarını ve homojenliğini sağlar.

Doku	Serviks
Hastalık	Karsinom

Eş anlamlılar

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

SINIFLANDIRMA

Canlı	İnsan
Cinsiyet	Kadın
Büyüme özellikleri	Bağlı
GDO durumu	GMO-S1

GDO durumuna ilişkin ayrıntılar

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.

Biyogüvenlik seviyesi	1

ÖZELLIKLER

Morfoloji	Mozaik taş şekilli epitel benzeri hücreler
İki katına çıkma süresi	24 saat

TANIMLAYICILAR

Kaynak gösterimi

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

NCBI Vergi Kimlik Numarası	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
Mevduat sahibi	Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)

İFADE VE DUYARLILIK

Protein ekspresyonu

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

Virüsler

HIV, HBV ve HCV negatif.

Ürünler

CMV Promotor, Histon H2B, Neomisin, Fosfotransferaz

İŞLEME VE YETIŞTIRME

Besiyeri

DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)

Kuluçka ortamı	37°C, %5CO2, nemlendirilmiş atmosfer.

Takviyeler

Ortamı %10 FBS ile takviye edin

Ayrıştırma reaktifi	Accutase

Alt kültür oluşturma

Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

Ekim yoğunluğu	1 x 10^4 hücre/cm^2
Sıvı değişimi	haftada 2 ila 3 kez
Çözülme sonrası toparlanma	Çözüldükten sonra, hücreleri 5 x 10^4 hücre/cm^2 olarak plakaya yerleştirin ve hücrelerin dondurma işleminden kurtulmasını ve en az 24 saat boyunca yapışmasını bekleyin.

Çözme ve kültürleme

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.

KALITE KONTROL VE KRIYOPREZERVASYON

Kısırlık

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır. Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

Dondurma ortamı	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Saklama koşulları

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Nakliye koşulları

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

BAĞIŞÇI

Bağışçının yaşı	30 yıl
Etnik köken	Afro-Amerikan

YASAL VE GÜVENLIK

Güvenlik önlemleri

İleride çözdürmek üzere sıvı nitrojen içinde bir kriyoviyal saklamayı planlarken, sıkı güvenlik önlemlerine uymak zorunludur. Uygun koruyucu eldivenler ve giysiler şarttır ve dondurulmuş numunelerin sıvı nitrojen tankına veya tanktan transferi sırasında yüz maskesi veya koruyucu gözlük kullanılması gerekir. Bu, çıkarma sırasında keskin parçaların fırlamasına neden olabilecek potansiyel kriyoviyal patlamalardan kaynaklanan yaralanma riskini azaltmak içindir.

Garanti

Cytion olarak ürünlerimizin kalitesinin ve canlılığının arkasındayız.
Hücrelerimizin, tesislerimizden sevkiyattan sonra 60 gün boyunca kültürün başlangıcında canlı olacağını garanti ediyoruz.
Tüm malzemelerin Analiz Sertifikası ve/veya Ürün Sayfasında açıklanan özelliklere uygun olduğunu garanti ediyoruz
Tüm ayrıntılar için lütfen <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garanti Beyanımıza bakın

Üçüncü taraf sözleşmeleri geçerlidir	Yes