НК EGFP-альфа-тубулін/H2B-mCherry

300670

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

Опис

Клітинна лінія НК EGFP-альфа-тубулін/H2B-mCherry HeLa Kyoto - це ретельно розроблена модель, призначена для детальної візуалізації клітинних процесів. Ця клональна лінія була стабільно трансфікована для експресії двох флуоресцентних білків, які дозволяють візуалізувати хроматин та мікротрубочкову мережу в реальному часі. Червоний флуоресцентний білок mCherry зливається з основним гістонним білком H2B, утворюючи H2B-mCherry. Цей злитий білок експресується з плазміди pH2B-mCherry-IRES-neo3 і слугує маркером хроматину, виділяючи ядерну ДНК при візуалізації живих клітин і полегшуючи дослідження динаміки хроматину та ядерної архітектури.
Крім того, ця клітинна лінія експресує мономерний посилений GFP (зелений флуоресцентний білок), злитий з α-тубуліном, введений за допомогою плазміди pmEGFP-α-тубулін-IRES-puro2b. Злиття GFP-α-тубуліну з α-тубуліном забезпечує яскраву зелену флуоресценцію, яка окреслює структури мікротрубочок у клітині. Ця особливість має вирішальне значення для вивчення організації та динаміки мікротрубочок, їхньої ролі в клітинному поділі та внутрішньоклітинному транспорті. Стабільна інтеграція цих конструкцій дозволяє проводити безперервне довготривале спостереження за цими клітинними компонентами без необхідності повторної трансфекції, зменшуючи таким чином варіабельність і підвищуючи надійність експериментальних результатів. Відбір резистентності до лікарських препаратів після трансфекції забезпечує стабільність і однорідність експресії серед клітин цієї лінії.

Тканина	Шийка матки
Хвороба	Карцинома

Синоніми

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

КЛАСИФІКАЦІЯ

Організм	Людина
Секс	Жінка
Характеристики росту	Прихильник
Статус ГМО	GMO-S1

Детальна інформація щодо статусу ГМО

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.

Рівень біобезпеки	1

ХАРАКТЕРИСТИКИ

Морфологія	Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю
Час подвоєння	24 години

ІДЕНТИФІКАТОРИ

Посилання

НК EGFP-альфа-тубулін/H2B-mCherry (номер за каталогом 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

Ідентифікаційний номер платника податків NCBI	9606
Целозавр	CVCL_L802
Вкладник	Лабораторія Елленберга (EMBL)

ЕКСПРЕСІЯ ТА СПРИЙНЯТЛИВІСТЬ

Експресія білків

EGFP-альфа-тубулін, H2B-mCherry: Розташування/ген: 1..589 / Pcmv, 652.1029 H2B, 1042.1752 / mCherry, 2983.3777 / KanR/NeoR

Віруси

Негативний на ВІЛ, ВГВ та ВГС.

Продукція

Промотор ЦМВ, гістон H2B, неоміцин, фосфотрансфераза

ОБРОБКА ТА ВИРОЩУВАННЯ

Живильне середовище

ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO3, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)

Атмосфера інкубації	37°C, 5% CO2, волога атмосфера.

Добавки

Додайте до середовища 10% FBS

Реагент для дисоціації	Аккутаза

Пересадка в нове середовище

Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Щільність висіву	1 x 10^4 клітин/см2
Оновлення рідини	2-3 рази на тиждень
Відновлення після відлиги	Після розморожування висійте клітини з щільністю 5 x 10^4 клітин/см2 і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.

Розморожування та культивування

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.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ТА КРІОКОНСЕРВАЦІЯ

Стерильність

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

Середовище для заморожування	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Умови зберігання

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Умови доставки

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

ДОНОР

Вік донора	30 років
Етнічна приналежність	Афроамериканець

ПРАВОВІ ПИТАННЯ ТА БЕЗПЕКА

Заходи безпеки

Плануючи зберігати кріовіал у рідкому азоті для подальшого розморожування, обов'язково слід дотримуватися суворих заходів безпеки. Під час перенесення заморожених зразків до резервуара з рідким азотом або з нього необхідно використовувати захисні рукавички та одяг, а також маску або захисні окуляри. Це необхідно для того, щоб зменшити ризик травмування від потенційних кріогенних вибухів при вилученні, які можуть призвести до розльоту гострих осколків.

Гарантія

У Cytion ми відповідаємо за якість та життєздатність нашої продукції.
Ми гарантуємо, що наші клітини будуть життєздатними на початку культивування протягом 60 днів після відвантаження з нашого заводу.
Ми запевняємо, що всі матеріали відповідають специфікаціям, описаним у сертифікаті аналізу та/або паспорті продукту
Для отримання більш детальної інформації, будь ласка, зверніться до нашого Заяви про гарантію

Діють угоди з третіми сторонами	Yes