

Клетки HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

Обща информация

Description

HeLa EB3-GFP Kirc 14 е генетично модифициран дериват на човешката клетъчна линия HeLa за карцином на шийката на матката, създаден да експресира стабилно фузионен конструкт на EB3 (енд-свързващ протеин 3), маркиран с GFP, като „Kirc 14“ обозначава специфичен подклон (клон 14), избран от трансфектирания пул. EB3 е член на семейството на енд-свързващите протеини, който проследява растящите плюс-краища на микротубулите и служи като репортер за динамичното поведение на микротубулите в живите клетки. Фузионният протеин GFP-EB3 генерира характерни флуоресцентни сигнали, наподобяващи комети, на върховете на полимеризиращите се микротубули, което позволява визуализация на динамиката на микротубулите, вътреклетъчния транспорт и организацията на цитоскелета в живи клетки в реално време.

HeLa EB3-GFP Kirc 14 се използва в изследванията по клетъчна биология за визуализация на динамиката на плюс-краищата на микротубулите в живи клетки, проучвания на сглобяването на митотичния шпиндел и взаимодействията между кинетохорите и микротубулите, изследвания на вътреклетъчния транспорт на товари, както и за оценка на съединения, които влияят върху динамиката на полимеризацията на микротубулите. Стабилната субклонална експресия на GFP-EB3 осигурява постоянна интензивност и модел на флуоресценцията при всички пасажки, което прави клон 14 подходящ за количествени визуализационни тестове и скрининг с висока производителност на агенти, насочени към микротубулите.

Organism

Човек

Tissue

Цервикс

Disease

Аденокарцином на шийката на матката (на фона на HeLa); стабилно трансфектиран с GFP-EB3 (репортер за плюс-края на микротубулите)

Applications

Визуализация на динамиката на микротубулите в живи клетки; изследвания на митотичния шпиндел; изследвания на взаимодействието между кинетохорите и микротубулите; вътреклетъчен транспорт; скрининг на лекарства, насочени към микротубулите

Характеристики

Morphology

Подобни на епител

Cell type

Епителни клетки

Growth properties

Придържащи се

Регулаторни данни

Клетки HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

Citation	HeLa EB3-GFP Kirc 14 27.09.24 (каталожен номер на Cytion 305718)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Произхожда от HeLa (CVCL_0030); подклонът GFP-EB3 не е обозначен самостоятелно
GMO Status	GMO-S1: Тази линия HeLa EB3 GFP KIRC14 съдържа EB3-конструкция, маркирана с GFP, за проследяване на плюс-края на микротубулите при визуализация на живи клетки. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase, 10 мин., 37 °C
Doubling time	около 24 часа
Subculturing	Отстранете старата среда от прилепналите клетки и ги измийте с PBS. Покрийте с Accutase, инкубирайте при стайна температура в продължение на 8–10 минути, ресуспендирайте със среда, центрофугирайте при 300×g в продължение на 3 минути и прехвърлете в чисти колби със селекционна среда.
Split ratio	от 1 до 5
Seeding density	от 1 до 3×10^4 клетки/см ²
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна хранителна среда + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване.

Клетки HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°C , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $200 \times g$ в продължение на 5 минути, внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща средата за замразяване.
7. Следвайте процедурата, описана в раздел "Възстановяване след размразяване"

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

**Shipping
Conditions**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

**Storage
Conditions**

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ