

## Клетки НК EB3-EGFP | 300668

## Обща информация

## Description

HeLa Kyoto EB3-EGFP е производна на клетъчната линия HeLa Kyoto, специално създадена да експресира End-Binding Protein 3 (EB3), маркиран с Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP). Тази клетъчна линия обикновено се използва в изследвания, насочени към разбиране на динамиката на микротубулите, поради флуоресцентното маркиране на EB3 - протеин, който се свързва с плюсовите краища на микротубулите. Експресията на EGFP осигурява флуоресцентен маркер, който позволява визуализиране в реално време на поведението на микротубулите в живи клетки под флуоресцентен микроскоп.

Тази клетъчна линия е особено ценна в клетъчната биология и изследванията на рака, където разбирането на механиката на клетъчното делене и вътреклетъчния транспорт е от решаващо значение. Стабилната експресия на EB3-EGFP не пречи на нормалните функции на микротубулите, което прави тези клетки надежден инструмент за подробни изследвания на клетъчните процеси, които зависят от динамиката на микротубулите.

## Organism

Човек

## Tissue

Цервикс

## Disease

Карцином

## Synonyms

HeLa Kyoto EB3-EGFP, HeLa Kyoto EB3 EGFP, HeLa Kyoto EGFP-EB3

## Характеристики

## Age

30 години

## Gender

Жена

## Ethnicity

Афроамериканец

## Morphology

Епителиални клетки с форма на мозаечно камъче

## Growth properties

Монослой, прилепнал

## Регулаторни данни

## Citation

НК EB3-EGFP (каталожен номер 300668 на Cytion)

## Biosafety level

1

## Клетки НК EB3-EGFP | 300668

<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1D61
<b>Depositor</b>	Лабораторията на Елтънбърг (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Тази линия HeLa Kyoto EB3-EGFP съдържа конструктор EB3, маркиран с EGFP, за динамична визуализация на микротубулите. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

## Биомолекуларни данни

<b>Protein expression</b>	MEGFP (микротубулен свързващ протеин 3, маркиран с mEGFP): Местоположение/ген: 1..589 / Pcmv, 652..1497 / EB3, 1516..2235 / EGFP, 3466..4260 / KanR/NeoR
<b>Products</b>	CMV Promotor EB3, неомицин, фосфотрансфераза

## Работа с

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Допълнете средата с 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ клетки/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 до 3 пъти седмично
<b>Post-Thaw Recovery</b>	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност $5 \times 10^4$ клетки/cm <sup>2</sup> и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

## Клетки НК EB3-EGFP | 300668

**Freeze medium**

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

**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  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 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 антимикуробен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 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  $300 \times g$  в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

**Flask Coating**

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

## Клетки НК EB3-EGFP | 300668

### Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

### Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  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  $-196^{\circ}\text{C}$ . Съхранението при  $-80^{\circ}\text{C}$  е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

## Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

### Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.