

Buňky HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

Obecné informace

Description

HeLa EB3-GFP Kirc 14 je geneticky modifikovaný derivát lidské buněčné linie HeLa pocházející z karcinomu děložního čípku, který byl upraven tak, aby stabilně exprimoval fúzní konstrukt EB3 (end-binding protein 3) značený GFP, přičemž „Kirc 14“ označuje specifický subklon (klon 14) vybraný z transfekovaného souboru. EB3 patří do rodiny end-binding proteinů, které sledují plusové konce rostoucích mikrotubulů a slouží jako indikátor dynamického chování mikrotubulů v živých buňkách. Fúzní protein GFP-EB3 vytváří charakteristické fluorescenční signály připomínající komety na koncích polymerizujících mikrotubulů, což umožňuje zobrazování dynamiky mikrotubulů, intracelulárního transportu a organizace cytoskeletu v živých buňkách v reálném čase.

HeLa EB3-GFP Kirc 14 se používá ve výzkumu buněčné biologie pro zobrazování dynamiky plusových konců mikrotubulů v živých buňkách, pro studium sestavování mitotického vřetena a interakcí mezi kinetochory a mikrotubuly, pro výzkum transportu intracelulárního nákladu a pro hodnocení sloučenin, které ovlivňují dynamiku polymerizace mikrotubulů. Stabilní subklonální exprese GFP-EB3 zajišťuje konzistentní intenzitu a vzorec fluorescence napříč pasážemi, díky čemuž je klon 14 vhodný pro kvantitativní zobrazovací testy a vysoce výkonné screeningové testy látek zaměřených na mikrotubuly.

Organism

Člověk

Tissue

Cervix

Disease

Adenokarcinom děložního čípku (na pozadí buněk HeLa); stabilně transfekovaný genem GFP-EB3 (reporter pro plusový konec mikrotubulů)

Applications

Zobrazování dynamiky mikrotubulů v živých buňkách; studie mitotického vřetena; výzkum interakce kinetochorů a mikrotubulů; intracelulární transport; screening léčiv zaměřených na mikrotubuly

Charakteristika

Morphology

Epitelu podobné

Cell type

Epitelové buňky

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje

Citation

HeLa EB3-GFP Kirc 14 27. 9. 2024 (katalogové číslo Cytion 305718)

Biosafety level

1

Buňky HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Odvozeno z HeLa (CVCL_0030); subklon GFP-EB3 nebyl samostatně označen
GMO Status	GMO-S1: Tato linie HeLa EB3 GFP KIRC14 obsahuje konstrukt EB3 značený GFP pro sledování plusového konce mikrotubulů při zobrazování živých buněk. Tato klasifikace platí pouze v Německu a v jiných zemích se může lišit.

Biomolekulární data

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase, 10 min., 37 °C
Doubling time	cca 24 hodin
Subculturing	Odstraňte staré médium z adhezivních buněk a propláchněte je PBS. Přidejte Accutase, inkubujte při pokojové teplotě po dobu 8–10 minut, resuspendujte v médiu, odstředte při 300×g po dobu 3 minut a přeneste do nových lahví se selekčním médiem.
Split ratio	1 až 5
Seeding density	1 až 3×10^4 buněk/cm ²
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium + 10% DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení.

Buňky HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení buď okamžitě uložte kryovialku při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 200 x g po dobu 5 minut, supernatant obsahující mrazicí médium opatrně zlikvidujte.
7. Postupujte podle postupu popsaneho v části Obnova po rozmrazení

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiwa, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza