

HeLa EB3 GFP KIRC14-celler | 305718

Generel information

Description

HeLa EB3-GFP Kirc 14 er et genetisk modificeret derivat af den humane HeLa-cellekultur fra livmoderhalskræft, der er udviklet til stabilt at udtrykke et GFP-mærket EB3-fusionskonstrukt (end-binding protein 3), hvor hvor »Kirc 14« betegner en specifik subklon (klon 14), der er udvalgt fra den transfekterede pulje. EB3 tilhører familien af end-binding-proteiner, som sporer de voksende plus-ender af mikrotubuli og fungerer som en markør for mikrotubuliens dynamiske adfærd i levende celler. GFP-EB3-fusionsproteinet producerer karakteristiske kometlignende fluorescenssignaler ved spidserne af polymeriserende mikrotubuli, hvilket muliggør billeddannelse af levende celler med hensyn til mikrotubuli-dynamik, intracellulær transport og cytoskeletets organisation i realtid.

HeLa EB3-GFP Kirc 14 anvendes i cellebiologisk forskning til billeddannelse af levende celler med henblik på at studere dynamikken i mikrotubulernes plus-ender, undersøgelser af mitotisk spindelsamling og interaktioner mellem kinetokorer og mikrotubuli, undersøgelser af intracellulær transport af last samt evaluering af forbindelser, der påvirker dynamikken i mikrotubulipolymerisationen. Den stabile subklonale GFP-EB3-ekspression giver en ensartet fluorescensintensitet og -mønster på tværs af passager, hvilket gør klon 14 velegnet til kvantitative billedannelsesanalyser og højkapacitetsscreening af midler, der er rettet mod mikrotubuli.

Organism

Menneske

Tissue

Livmoderhalsen

Disease

Adenokarcinom i livmoderhalsen (HeLa-baggrund); stabilt transfekteret med GFP-EB3 (reporter for mikrotubulernes plus-ende)

Applications

Billeddannelse af mikrotubuli-dynamik i levende celler; undersøgelser af mitotiske spindler; forskning i interaktionen mellem kinetokorer og mikrotubuli; intracellulær transport; screening af lægemidler rettet mod mikrotubuli

Karakteristika

Morphology

Epitel-lignende

Cell type

Epitheliale celler

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation

HeLa EB3-GFP Kirc 14 27.09.24 (Cytion-katalognummer 305718)

HeLa EB3 GFP KIRC14-celler | 305718

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** Afledt af HeLa (CVCL_0030); GFP-EB3-subklon er ikke tildelt en selvstændig betegnelse**GMO Status** GMO-S1: Denne HeLa EB3 GFP KIRC14-stamme indeholder et GFP-mærket EB3-konstrukt til sporing af mikrotubulernes plus-ende ved billeddannelse af levende celler. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.

Biomolekylære data

Håndtering

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase, 10 min., 37 °C**Doubling time** ca. 24 timer**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de vedhæftede celler og vask dem med PBS. Dæk cellerne med Accutase, inkuber ved stuetemperatur i 8–10 minutter, resuspender med medium, centrifuger ved 300×g i 3 minutter, og overfør til nye kolber med selektionsmedium.**Split ratio** 1 til 5**Seeding density** 1 til 3×10^4 cell^{er}/cm²**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Freeze medium** Som kryopræserversmedium bruger vi komplet vækstmedium + 10 % DMSO for at opnå tilstrækkelig levedygtighed efter optøning.

HeLa EB3 GFP KIRC14-celler | 305718

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tør is for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelse skal du enten opbevare kryohætteglasset med det samme ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller fortsætte til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 200 x g i 5 minutter, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder frysemedium.
7. Følg proceduren beskrevet under Post-Thaw Recovery

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellerlinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse