Product sheet

Κύτταρα HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

Γενικές πληροφορίες

Description	Το HeLa EB3-GFP Kirc 14 είναι ένα γενετικά τροποποιημένο παράγωγο της ανθρώπινης κυτταρικής σειράς καρκινώματος του τραχήλου της μήτρας HeLa, το οποίο έχει σχεδιαστεί ώστε να εκφράζει σταθερά ένα κατασκευασμένο συγκρότημα σύντηξης της πρωτεΐνης EB3 (end-binding protein 3) με σήμανση GFP, με όπου «Kirc 14» υποδηλώνει έναν συγκεκριμένο υποκλώνο (κλώνος 14) που επιλέχθηκε από το σύνολο των μεταμοσχευμένων κυττάρων. Η EB3 ανήκει στην οικογένεια των πρωτεϊνών πρόσδεσης στα άκρα, οι οποίες παρακολουθούν τα θετικά άκρα των αναπτυσσόμενων μικροσωληναρίων και χρησιμεύουν ως δείκτες της δυναμικής συμπεριφοράς των μικροσωληναρίων σε ζωντανά κύτταρα. Η πρωτεΐνη σύντηξης GFP-EB3 παράγει χαρακτηριστικά φθορίζοντα σήματα που μοιάζουν με κομήτες στις άκρες των πολυμεριζόμενων μικροσωληναρίων, επιτρέποντας την απεικόνιση ζωντανών κυττάρων όσον αφορά τη δυναμική των μικροσωληναρίων, την ενδοκυτταρική μεταφορά και την οργάνωση του κυτταροσκελετού σε πραγματικό χρόνο. Το HeLa EB3-GFP Kirc 14 χρησιμοποιείται στην έρευνα της κυτταρικής βιολογίας για την απεικόνιση ζωντανών κυττάρων όσον αφορά τη δυναμική των θετικών άκρων των μικροσωληναρίων, για μελέτες της συναρμολόγησης του μιτωτικού άξονα και των αλληλεπιδράσεων κινητοχώρου-μικροσωληναρίου, για έρευνες σχετικά με την ενδοκυτταρική μεταφορά φορτίου, καθώς και για την αξιολόγηση ενώσεων που επηρεάζουν τη δυναμική πολυμερισμού των μικροσωληναρίων. Η σταθερή υποκλωνική έκφραση GFP-EB3 παρέχει σταθερή ένταση και μοτίβο φθορισμού σε όλες τις πασάδες, καθιστώντας τον κλώνο 14 κατάλληλο για ποσοτικές δοκιμασίες απεικόνισης και διαλογή υψηλής απόδοσης παραγόντων που στοχεύουν τους μικροσωληνίσκους.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Τράχηλος μήτρας
Disease	Αδενοκαρκίνωμα του τραχήλου της μήτρας (με προέλευση από κύτταρα HeLa)· σταθερά μετασχηματισμένο με GFP-EB3 (δείκτης του θετικού άκρου των μικροσωληναρίων)
Applications	Απεικόνιση της δυναμικής των μικροσωληναρίων σε ζωντανά κύτταρα· μελέτες του μιτωτικού άξονα· έρευνα σχετικά με την αλληλεπίδραση κινητοχώρου-μικροσωληναρίου· ενδοκυτταρική μεταφορά· διαλογή φαρμάκων που στοχεύουν στα μικροσωληνάρια

Χαρακτηριστικά

Morphology	Επιθηλιοειδής
Cell type	Επιθηλιακά κύτταρα
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Κύτταρα HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

Citation	HeLa EB3-GFP Kirc 14 27/09/24 (αριθμός καταλόγου Cytion 305718)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Προέρχεται από HeLa (CVCL_0030)· ο υποκλώνος GFP-EB3 δεν έχει καταχωριστεί ανεξάρτητα
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η σειρά HeLa EB3 GFP KIRC14 περιέχει ένα κατασκευασμένο μόριο EB3 με σήμανση GFP για την παρακολούθηση του θετικού άκρου των μικροσωληναρίων κατά την απεικόνιση ζωντανών κυττάρων. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο στη Γερμανία και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase, 10 λεπτά, 37 °C
Doubling time	περίπου 24 ώρες
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύνετε τα με PBS. Καλύψτε τα με Accutase, επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά, ανασυστήστε τα με μέσο, φυγοκεντρήστε στα 300×g για 3 λεπτά και μεταφέρετέ τα σε καινούργιες φιάλες με μέσο επιλογής.
Split ratio	1 έως 5
Seeding density	1 έως 3×10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη.

Κύτταρα HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρήστε το μείγμα στα 200 x g για 5 λεπτά, απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το μέσο κατάψυξης.

7. Ακολουθήστε τη διαδικασία που περιγράφεται στην ενότητα Ανάκτηση μετά την απόψυξη

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση