Product sheet

Κύτταρα HK EB3-EGFP | 300668

Γενικές πληροφορίες

Description	Η Hela Kyoto EB3-EGFP είναι ένα παράγωγο της κυτταρικής σειράς HeLa Kyoto, ειδικά σχεδιασμένο για να εκφράζει την πρωτεΐνη End-Binding Protein 3 (EB3) με ετικέτα ενισχυμένης πράσινης φθορίζουσας πρωτεΐνης (EGFP). Αυτή η κυτταρική σειρά χρησιμοποιείται συνήθως σε έρευνες που επικεντρώνονται στην κατανόηση της δυναμικής των μικροσωληνίσκων λόγω της φθορίζουσας σήμανσης της EB3, μιας πρωτεΐνης που συνδέεται με τα θετικά άκρα των μικροσωληνίσκων. Η έκφραση της EGFP παρέχει έναν φθορίζοντα δείκτη που επιτρέπει την απεικόνιση σε πραγματικό χρόνο της συμπεριφοράς των μικροσωληνίσκων σε ζωντανά κύτταρα υπό μικροσκόπιο φθορισμού. Αυτή η κυτταρική σειρά είναι ιδιαίτερα πολύτιμη στην κυτταρική βιολογία και την έρευνα για τον καρκίνο, όπου η κατανόηση της μηχανικής της κυτταρικής διαίρεσης και της ενδοκυτταρικής μεταφοράς είναι ζωτικής σημασίας. Η σταθερή έκφραση του EB3-EGFP δεν παρεμβαίνει στις φυσιολογικές λειτουργίες των μικροσωληνίσκων, καθιστώντας τα κύτταρα αυτά ένα αξιόπιστο εργαλείο για λεπτομερείς μελέτες των κυτταρικών διεργασιών που εξαρτώνται από τη δυναμική των μικροσωληνίσκων.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Τράχηλος μήτρας
Disease	Καρκίνωμα
Synonyms	HeLa Kyoto EB3-EGFP, HeLa Kyoto EB3 EGFP, HeLa Kyoto EGFP-EB3

Χαρακτηριστικά

Age	30 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Αφροαμερικανός
Morphology	Επιθηλιακά κύτταρα με ψηφιδωτό σχήμα πέτρας
Growth properties	Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HK EB3-EGFP (αριθμός καταλόγου Cytion 300668)
Biosafety level	1

Κύτταρα HK EB3-EGFP | 300668

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D61
Depositor	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η γραμμή HeLa Kyoto EB3-EGFP περιέχει μια κατασκευή EB3 με ετικέτα EGFP για την απεικόνιση δυναμικών μικροσωληνίσκων. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	MEGFP (μικροσωληνίσκος End-binding protein 3 mEGFP tagged): 1..589 / Pcmv, 652..1497 / EB3, 1516..2235 / EGFP, 3466..4260 / KanR/NeoR
Products	CMV Promotor EB3, Νεομυκίνη, φωσφοτρανσφεράση

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
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Seeding density	1 x 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5 x 10^4 κύτταρα/cm^2 και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.

Κύτταρα HK EB3-EGFP | 300668

Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

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. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Flask Coating	Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Κύτταρα HK EB3-EGFP | 300668

Freezing Procedure	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.
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.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.