

HeLa EB3 GFP KIRC14 rakud | 305718

Üldine teave

Description

HeLa EB3-GFP Kirc 14 on inimese HeLa emakakaelavähi rakuliini geneetiliselt muundatud derivaat, mis on loodud GFP-märgistatud EB3 (end-binding protein 3) fusioonikonstrukti stabiilseks ekspresseerimiseks, kusjuures kus „Kirc 14“ tähistab transfekteeritud rakupoolist valitud spetsiifilist alaklooni (kloon 14). EB3 kuulub otsasiduvate valkude perekonda, mis jälgib kasvavate mikrotubulite pluss-otsi ja toimib elusrakkudes mikrotubulite dünaamilise käitumise indikaatorina. GFP-EB3-fusioonvalk tekitab polümeriseeruvate mikrotubulite otstes iseloomulikke komeedilaadseid fluorestsentssignaale, võimaldades reaalsajas jälgida elusrakkudes mikrotubulite dünaamikat, rakusisest transporti ja tsütoskeleti korraldust.

HeLa EB3-GFP Kirc 14 kasutatakse rakubioloogia uuringutes mikrotubulite pluss-otste dünaamika pildistamiseks elusrakkudes, mitootilise varda moodustumise ja kinetokoor-mikrotubuli interaktsioonide uurimiseks, rakusisese lasti transpordi uurimiseks ning mikrotubulite polümerisatsiooni dünaamikat mõjutavate ühendite hindamiseks. Stabiilne subklooniline GFP-EB3 ekspressioon tagab ühtlase fluorestsentsi intensiivsuse ja mustri kõikide passaažide vältel, mistõttu on kloon 14 sobiv kvantitatiivseteks pildistamisanalüüsideks ja mikrotubuleid sihtivate ainete suure läbilaskevõimega sõelumiseks.

Organism

Inimene

Tissue

Emakakael

Disease

Emakakaela adenokartsinoom (HeLa-taust); stabiilselt transfekteeritud GFP-EB3-ga (mikrotubulite pluss-otsa reporter)

Applications

Elusrakkude mikrotubulite dünaamika pildistamine; mitootilise varda uuringud; kinetokooride ja mikrotubulite vastastikmõju uurimine; rakusisene transport; mikrotubulitele suunatud ravimite sõelumine

Omadused

Morphology

Epiteelilaadsed

Cell type

Epiteelirakud

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation

HeLa EB3-GFP Kirc 14 27.09.24 (Cytioni katalooginumber 305718)

Biosafety level

1

HeLa EB3 GFP KIRC14 rakud | 305718

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Pärit HeLa-st (CVCL_0030); GFP-EB3 alamkloonile ei ole eraldi numbrit omistatud
GMO Status	GMO-S1: See HeLa EB3 GFP KIRC14 liin sisaldab GFP-märgistatud EB3-konstrukti, mis võimaldab elusrakkude pildistamisel jälgida mikrotubulite pluss-otsa liikumist. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase, 10 min, 37 °C
Doubling time	umbes 24 tundi
Subculturing	Eemaldage vanad kasvukeskkonnad kinnitunud rakkudelt ja peske neid PBS-ga. Katke Accutase'iga, inkubeerige toatemperatuuril 8–10 minutit, suspendeerige uuesti kasvukeskkonnas, tsentrifuugige 300×g juures 3 minutit ja kandke üle värsketesse kolvidesse, mis sisaldavad selektsioonikeskkonda.
Split ratio	1–5
Seeding density	$1-3 \times 10^4$ rakku/cm ²
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüsäilitusvedelikuna kasutame täielikku kasvukeskkonda + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist.

HeLa EB3 GFP KIRC14 rakud | 305718**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Tsentrifuugige segu 5 minutit 200 x g juures, visake ettevaatlikult ära külmutusvedelikku sisaldav supernatant.
7. Järgige punktis "Taastamisjärgne taastamine" kirjeldatud menetlust

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs