

HK EB3-EGFP rakud | 300668

Üldine teave

Description

HeLa Kyoto EB3-EGFP on HeLa Kyoto rakuliini derivaat, mis on spetsiaalselt loodud selleks, et ekspresseerida End-Binding Protein 3 (EB3), mis on märgistatud tõhustatud rohelise fluorestseeruva valguga (EGFP). Seda rakuliini kasutatakse tavaliselt mikrotuubulite dünaamika mõistmiseks tehtavates uuringutes, kuna EB3 on fluorestseeruv märgistus, mis seostub mikrotuubulite plusspoolsete otstega. EGFP ekspressioon annab fluorestseeruva markeri, mis võimaldab mikrotuubulite käitumise reaajas visualiseerimist elusrakus fluorestsentsmikroskoobi all.

See rakuliin on eriti väärtuslik rakubioloogia ja vähiuuringute jaoks, kus rakkude jagunemise ja rakusise transpordi mehaanika mõistmine on väga oluline. EB3-EGFP stabiilne ekspressioon ei häiri mikrotuubulite normaalseid funktsioone, mistõttu on need rakud usaldusväärne vahend mikrotuubulite dünaamikast sõltuvate rakuprotsesside üksikasjalikuks uurimiseks.

Organism Inimene

Tissue Emakakael

Disease Kartsinoom

Synonyms HeLa Kyoto EB3-EGFP, HeLa Kyoto EB3 EGFP, HeLa Kyoto EGFP-EB3

Omadused

Age 30 aastat

Gender Naised

Ethnicity Afroameeriklane

Morphology Epiteelilaadsed rakud, millel on mosaiikne kivikuju

Growth properties Monokihiline, kleepuv

Regulatiivsed andmed

Citation HK EB3-EGFP (Cytioni katalooginumber 300668)

Biosafety level 1

HK EB3-EGFP rakud | 300668

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D61**Depositor** Ellenbergi labor (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: See HeLa Kyoto EB3-EGFP liin sisaldab EGFP-märgistatud EB3 konstruktsiooni dünaamilise mikrotoubuli visualiseerimiseks. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression MEGFP (mikrotoubuli otsaga seonduv valk 3 mEGFP märgistatud): 1..589 / Pcmv, 652..1497 / EB3, 1516..2235 / EGFP, 3466..4260 / KanR/NeoR**Products** CMV Promotor EB3, neomütsiin, fosfotransferaas

Töötlemine

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Seeding density** 1×10^4 rakku/cm²**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Post-Thaw Recovery** Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

HK EB3-EGFP rakud | 300668

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

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 tervikluse 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. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärseid katsetulemusi.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

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.

HK EB3-EGFP rakud | 300668

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 viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

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

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.