

HeLa EB3 GFP KIRC14 -solut | 305718

Yleisiä tietoja

Description

HeLa EB3-GFP Kirc 14 on ihmisen HeLa-kohdunkaulasyöpäsolulinjan geneettisesti muunnettu johdannainen, joka on suunniteltu ilmentämään vakaasti GFP-merkittyä EB3-fuusiokonstruktiota (end-binding protein 3), jossa ”Kirc 14” viittaa tiettyyn alikloonin (klooni 14), joka on valittu transfektoidusta solupoolista. EB3 kuuluu end-binding-proteiinien perheeseen, joka seuraa kasvavien mikrotubulusten plus-päitä ja toimii indikaattorina mikrotubulusten dynaamiselle käyttäytymiselle elävissä soluissa. GFP-EB3-fuusioproteiini tuottaa tyypillisiä komeetan kaltaisia fluoresoivia signaaleja polymeroituvien mikrotubulusten kärjissä, mikä mahdollistaa mikrotubulusten dynamiikan, solunsisäisen kuljetuksen ja sytoskeletonin organisoitumisen reaaliaikaisen kuvantamisen elävissä soluissa.

HeLa EB3-GFP Kirc 14:ää käytetään solubiologian tutkimuksessa mikrotubulusten plus-päiden dynamiikan elävien solujen kuvantamiseen, mitotisen spindelin kokoonpanon ja kinetokoorin ja mikrotubulusten välisten vuorovaikutusten tutkimiseen, solunsisäisen raadin kuljetuksen selvittämiseen sekä mikrotubulusten polymeroitumisdynamiikkaan vaikuttavien yhdisteiden arviointiin. Vakaa subklonaalinen GFP-EB3-ilmentyminen takaa yhdenmukaisen fluoresenssin voimakkuuden ja kuvion eri viljelykertojen välillä, minkä ansiosta klooni 14 soveltuu kvantitatiivisiin kuvantamismäärityksiin ja mikrotubuleihin kohdistuvien aineiden suurikapasiteettiseen seulontaan.

Organism

Ihminen

Tissue

Kohdunkaula

Disease

Kohdunkaulan adenokarsinooma (HeLa-tausta); vakioitu GFP-EB3-transfektio (mikrotubulusten plus-pään merkkigeeni)

Applications

Elävien solujen mikrotubulusten dynamiikan kuvantaminen; mitootisen spindelin tutkimukset; kinetokoorin ja mikrotubulusten välisen vuorovaikutuksen tutkimus; solunsisäinen kuljetus; mikrotubuluksiin kohdistuvien lääkkeiden seulonta

Ominaisuudet

Morphology

Epiteelin kaltainen

Cell type

Epiteelisolut

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation

HeLa EB3-GFP Kirc 14 27.9.24 (Cytion-tuotenumero 305718)

HeLa EB3 GFP KIRC14 -solut | 305718

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Peräisin HeLa-solulinjasta (CVCL_0030); GFP-EB3-alakloonille ei ole määritetty erillistä tunnistetta
GMO Status	GMO-S1: Tämä HeLa EB3 GFP KIRC14 -kanta sisältää GFP-merkityn EB3-konstruktin, jota käytetään mikrotubulusten plus-päiden seurantaan elävien solujen kuvantamisessa. Tämä luokitus koskee ainoastaan Saksaa, ja se voi poiketa muissa maissa.

Biomolekyylitiedot

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase, 10 min., 37 °C
Doubling time	noin 24 tuntia
Subculturing	Poista vanha elatusaine kiinnittyneistä soluista ja huuhtelee ne PBS:llä. Lisää Accutasea, inkuboi huoneenlämmössä 8–10 minuuttia, suspendoi solut uudelleen elatusaineeseen, sentrifugoi 300×g:n voimalla 3 minuuttia ja siirrä solut uusiin pulloihin, joissa on valintalaitteistoa sisältävää elatusainetta.
Split ratio	1–5
Seeding density	$1-3 \times 10^4$ solua/cm ²
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa + 10 % DMSO:ta, jotta elinkelpoisuus olisi riittävä sulatuksen jälkeen.

HeLa EB3 GFP KIRC14 -solut | 305718

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 200 x g:n voimakkuudella 5 minuuttia ja hävitä varovasti pakastusmediaa sisältävä supernatantti.
7. Noudatetaan kohdassa Sulattamisen jälkeinen talteenotto kuvattua menettelyä

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 %_{CO2}, kostutettu ilmakehä.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi