

HeLa EB3 GFP KIRC14 sejtek | 305718

Általános információk

Description

A HeLa EB3-GFP Kirc 14 az emberi HeLa méhnyakrákos sejtvonal genetikailag módosított származéka, amelyet úgy alakítottak ki, hogy stabilan kifejezze a GFP-vel jelölt EB3 (end-binding protein 3) fúziós konstrukciót, ahol ahol a „Kirc 14” a transzfektált sejttállományból kiválasztott specifikus szubklónt (14. klón) jelöli. Az EB3 az end-binding fehérje család tagja, amely a növekvő mikrotubulusok plusz-végét követi nyomon, és az élő sejtekben a mikrotubulusok dinamikus viselkedésének jelzőjeként szolgál. A GFP-EB3 fúziós fehérje jellegzetes, üstökösszerű fluoreszcens jeleket hoz létre a polimerizálódó mikrotubulusok csúcsain, lehetővé téve a mikrotubulusok dinamikájának, az intracelluláris transzportnak és a citoskeleton szerveződésének valós idejű, élő sejtekben történő képalkotását.

A HeLa EB3-GFP Kirc 14-et a sejtbiológiai kutatásokban használják a mikrotubulusok plusz-végének dinamikájának élő sejtekben történő képalkotására, a mitotikus orsó összeállításának és a kinetokór–mikrotubulus kölcsönhatások vizsgálatára, az intracelluláris szállítás kutatására, valamint a mikrotubulus-polimerizációs dinamikát befolyásoló vegyületek értékelésére. A stabil szubklonális GFP-EB3-expresszió a tenyésztési ciklusok során is állandó fluoreszcencia-intenzitást és -mintázatot biztosít, így a 14-es klón alkalmas kvantitatív képalkotó vizsgálatokra és a mikrotubulusokat célzó hatóanyagok nagy áteresztőképességű szűrésére.

Organism

Emberi

Tissue

Cervix

Disease

Méhnyak-adenokarcinóma (HeLa-háttér); GFP-EB3-mal stabilan transzfektálva (mikrotubulus plusz-végű riporter)

Applications

Élő sejtek mikrotubulus-dinamikájának képalkotása; mitotikus orsó vizsgálata; kinetokór–mikrotubulus kölcsönhatás kutatása; sejten belüli transzport; mikrotubulusokat célzó gyógyszerek szűrése

Jellemzők

Morphology

Epithelszerű

Cell type

Epithel sejtek

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Citation

HeLa EB3-GFP Kirc 14 2024.09.27. (Cytion katalógusszám: 305718)

Biosafety level

1

HeLa EB3 GFP KIRC14 sejtek | 305718

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	HeLa-ból származik (CVCL_0030); a GFP-EB3 alklón nem kapott önálló azonosítót
GMO Status	GMO-S1: Ez a HeLa EB3 GFP KIRC14 sejt vonal egy GFP-vel jelölt EB3-konstruktmot tartalmaz, amely élő sejtek képzésekor a mikrotubulusok plusz-végének nyomon követésére szolgál. Ez a besorolás kizárólag Németország területén érvényes, más országokban eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase, 10 perc, 37 °C
Doubling time	kb. 24 óra
Subculturing	Távolítsuk el a régi táptalajt a tapadó sejtekről, majd mossuk le PBS-sel. Öntsünk rá Accutase-t, inkubáljuk szobahőmérsékleten 8–10 percig, oldjuk fel újra táptalajban, centrifugáljuk 300×g-nél 3 percig, majd helyezzük át friss, szelekciós táptalajjal ellátott lombikokba.
Split ratio	1–5
Seeding density	$1-3 \times 10^4$ sejt/cm ²
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében.

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

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és felnyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 200 x g-nél 5 percig, a fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót óvatosan dobjuk el.
7. Kövesse a felolvasztás utáni helyreállításnál leírt eljárást

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , párasított légkör.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Storage
Conditions**

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés