

Sel HK EB3-EGFP | 300668

Informasi umum

Description

HeLa Kyoto EB3-EGFP adalah turunan dari garis sel HeLa Kyoto, yang secara khusus direkayasa untuk mengekspresikan End-Binding Protein 3 (EB3) yang ditandai dengan Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP). Lini sel ini umumnya digunakan dalam penelitian yang berfokus pada pemahaman dinamika mikrotubulus karena penandaan fluoresen EB3, protein yang berasosiasi dengan ujung plus mikrotubulus. Ekspresi EGFP memberikan penanda fluoresen yang memungkinkan visualisasi perilaku mikrotubulus secara real-time dalam sel hidup di bawah mikroskop fluoresensi.

Garis sel ini sangat berharga dalam biologi sel dan penelitian kanker, di mana memahami mekanisme pembelahan sel dan transportasi intraseluler sangat penting. Ekspresi EB3-EGFP yang stabil tidak mengganggu fungsi normal mikrotubulus, menjadikan sel-sel ini alat yang dapat diandalkan untuk studi terperinci tentang proses seluler yang bergantung pada dinamika mikrotubulus.

Organism Manusia

Tissue Serviks

Disease Karsinoma

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

Karakteristik

Age 30 tahun

Gender Perempuan

Ethnicity Afrika-Amerika

Morphology Sel mirip epitel dengan bentuk batu mosaik

Growth properties Monolayer, patuh

Data Peraturan

Citation HK EB3-EGFP (Nomor katalog Cytion 300668)

Biosafety level 1

Sel HK EB3-EGFP | 300668

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1D61

Depositor Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Lini HeLa Kyoto EB3-EGFP ini mengandung konstruk EB3 yang diberi tag EGFP untuk visualisasi mikrotubulus dinamis. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.

Data Biomolekuler

Protein expression MEGFP (protein pengikat ujung mikrotubulus 3 yang ditandai mEGFP): Lokasi / Gen: 1..589 / Pcmv, 652..1497 / EB3, 1516..2235 / EGFP, 3466..4260 / KanR / NeoR

Products Promotor CMV EB3, Neomisin, Fosfotransferase

Penanganan

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)

Supplements Tambahkan media dengan 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.

Seeding density 1×10^4 sel/cm²

Fluid renewal 2 hingga 3 kali per minggu

Post-Thaw Recovery Setelah dicairkan, tanam sel pada kepadatan 5×10^4 sel/cm² dan biarkan sel pulih dari proses pembekuan serta menempel setidaknya selama 24 jam.

Sel HK EB3-EGFP | 300668**Freeze medium**

Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $300 \times g$ selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

Flask Coating

Tidak ada

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel HK EB3-EGFP | 300668

**Shipping
Conditions**

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

**Storage
Conditions**

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196°C . Penyimpanan pada suhu -80°C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.