

HeLa EB3 GFP KIRC14 ląstelės | 305718

Bendra informacija

Description	„HeLa EB3-GFP Kirc 14“ yra genetiškai modifikuotas žmogaus gimdos kaklelio karcinomos ląstelių linijos „HeLa“ darinys, sukurtas taip, kad stabiliai ekspresuotų GFP žymėtą EB3 (galinio ryšio baltymo 3) junginį, kur „Kirc 14“ žymintis konkretų subkloną (kloną 14), atrinktą iš transfekuto ląstelių pulko. EB3 priklauso galinių jungčių baltymų šeimai, kuri seka augančių mikrotubulių plusinius galus ir veikia kaip gyvų ląstelių dinamiško mikrotubulių elgesio indikatorius. GFP-EB3 jungtinis baltymas sukuria būdingus kometos formos fluorescencinius signalus polimerizuojančių mikrotubulių galuose, leidžiančius realiuoju laiku stebėti gyvų ląstelių mikrotubulių dinamiką, intraląstelinį transportą ir citoskeleto organizavimą. „HeLa EB3-GFP Kirc 14“ naudojamas ląstelių biologijos tyrimuose gyvų ląstelių mikrotubulių „pliuso“ galų dinamikos vaizdavimui, mitozinio verpstės surinkimo ir kinetochorų bei mikrotubulių sąveikų tyrimams, ląstelės vidaus krovinių transporto tyrimams bei junginių, veikiančių mikrotubulių polimerizacijos dinamiką, vertinimui. Stabili subkloninė GFP-EB3 ekspresija užtikrina pastovų fluorescencijos intensyvumą ir modelį per visus pasėlių kartus, todėl 14-asis klonas tinka kiekybiniam vaizdavimo tyrimams ir didelio našumo mikrotubulius veikiančių medžiagų atrankai.
Organism	Žmogus
Tissue	Gimdos kaklelis
Disease	Gimdos kaklelio adenokarcinoma (HeLa fonas); stabiliai transfekutuota GFP-EB3 (mikrotubulių teigiamojo galo reporteris)
Applications	Gyvų ląstelių mikrotubulių dinamikos vaizdinimas; mitozinio verpstės tyrimai; kinetochorų ir mikrotubulių sąveikos tyrimai; ląstelių vidinis transportas; vaistų, veikiančių mikrotubulius, atranka

Charakteristikos

Morphology	Į epitelį panašus
Cell type	Epitelio ląstelės
Growth properties	Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation	HeLa EB3-GFP Kirc 14 2024 m. rugsėjo 27 d. (Cytion katalogo numeris 305718)
Biosafety level	1

HeLa EB3 GFP KIRC14 ląstelės | 305718

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Išskirtas iš HeLa (CVCL_0030); GFP-EB3 subklonas nebuvo savarankiškai priskirtas
GMO Status	GMO-S1: Ši „HeLa EB3 GFP KIRC14“ linija turi GFP žymėtą EB3 konstrukta, skirtą mikrotubulių teigiamojo galo sekimui atliekant gyvų ląstelių vaizdinimą. Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO ₃ , š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	„Accutase“, 10 min., 37 °C
Doubling time	maždaug 24 valandos
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prisitvirtinusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS tirpalu. Užpilkite „Accutase“ tirpalu, inkubuokite kambario temperatūroje 8–10 minučių, vėl suspenduokite terpėje, centrifuguokite 300×g greičiu 3 minutes ir perkelti į šviežias kolbas su selekcijos terpe.
Split ratio	1–5
Seeding density	nuo 1 iki 3×10^4 ląstelių/cm ²
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo.

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

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $200 \times g$ greičiu 5 minutes, atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpe.
7. Atlikite procedūrą, aprašytą skyriuje "Atkūrimas po atšildymo"

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė