

## HK EB3-EGFP ląstelės | 300668

## Bendra informacija

## Description

"Hela Kyoto EB3-EGFP" yra "HeLa Kyoto" ląstelių linijos darinys, specialiai sukurtas taip, kad ekspresuotų "End-Binding Protein 3" (EB3), pažymėtą sustiprintu žaliuoju fluorescenciniu baltymu (EGFP). Ši ląstelių linija paprastai naudojama tyrimams, kuriais siekiama suprasti mikrotubulių dinamiką, nes EB3 - baltymas, kuris jungiasi su mikrotubulių plusiniais galais - yra pažymėtas fluorescenciniu žymekliu. EGFP išraiška yra fluorescencinis žymeklis, leidžiantis realiuoju laiku vizualizuoti mikrotubulių elgseną gyvose ląstelėse fluorescenciniu mikroskopu.

Ši ląstelių linija yra ypač vertinga ląstelių biologijos ir vėžio tyrimuose, kur labai svarbu suprasti ląstelių dalijimosi ir viduląstelinio pernešimo mechaniką. Stabili EB3-EGFP raiška netrikdo normalių mikrovamzdelių funkcijų, todėl šios ląstelės yra patikimas įrankis išsamiems ląstelių procesų, priklausančių nuo mikrovamzdelių dinamikos, tyrimams.

**Organism** Žmogus

**Tissue** Gimdos kaklelis

**Disease** Karcinoma

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

## Charakteristikos

**Age** 30 metų

**Gender** Moteris

**Ethnicity** Afroamerikietis

**Morphology** | epitelį panašios ląstelės su mozaikos formos akmenukais

**Growth properties** Viensluoksnis, prigludęs

## Reguliavimo duomenys

**Citation** HK EB3-EGFP (Cytion katalogo numeris 300668)

**Biosafety level** 1

## HK EB3-EGFP ląstelės | 300668

**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1D61**Depositor** Ellenbergo laboratorija (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Šioje HeLa Kyoto EB3-EGFP linijoje yra su EGFP žymėtu EB3 konstruktas, skirtas dinamiškam mikrotubulų vizualizavimui. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

## Biomolekuliniai duomenys

**Protein expression** MEGFP (mikrovamzdelių galą surišantis baltymas 3 mEGFP žymėtas): 589 / Pcmv, 652..1497 / EB3, 1516..2235 / EGFP, 3466..4260 / KanR/NeoR**Products** CMV Promotor EB3, neomicinas, fosfotransferazė

## Tvarkymas

**Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  ląstelės/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Post-Thaw Recovery** Atšildžius, išdėliokite ląsteles  $5 \times 10^4$  ląstelių/cm<sup>2</sup> tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

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

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

**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  $-150^{\circ}\text{C}$  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  $37^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu 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 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

**Flask Coating**

Nėra

**Freezing Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## HK EB3-EGFP ląstelės | 300668

### 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 perkelkite 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 perkeliant į skystą azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.