

HeLa EB3 GFP KIRC14 šūnas | 305718

Vispārīga informācija

Description

HeLa EB3-GFP Kirc 14 ir ģenētiski modificēts cilvēka HeLa dzemdes kakla karcinomas šūnu līnijas atvasinājums, kas izveidots, lai stabili ekspresētu ar GFP marķētu EB3 (end-binding protein 3) fūzijas konstrukt, kur „Kirc 14” apzīmē konkrētu subklonu (klons 14), kas atlasīts no transfekcijas rezultātā iegūtā šūnu kopuma. EB3 pieder pie galotnes saistošo proteīnu ģimenes, kas seko augošo mikrotubulu plus-galotnēm un kalpo kā marķieris, kas atspoguļo dinamisko mikrotubulu uzvedību dzīvajās šūnās. GFP-EB3 fūzijas proteīns rada raksturīgus komētasveida fluorescences signālus polimerizējošo mikrotubulu galos, ļaujot reāllaikā veikt dzīvo šūnu attēlveidošanu, lai novērotu mikrotubulu dinamiku, intracelulāro transportu un citoskeleta organizāciju.

HeLa EB3-GFP Kirc 14 tiek izmantots šūnu bioloģijas pētījumos, lai veiktu dzīvo šūnu attēlveidošanu mikrotubulu plus-galu dinamikas novērošanai, pētītu mitotiskā vārpstiņa veidošanos un kinetohoru-mikrotubulu mijiedarbību, izpētītu intracelulāro kravas transportu, kā arī novērtētu savienojumus, kas ietekmē mikrotubulu polimerizācijas dinamiku. Stabīlā subklonālā GFP-EB3 ekspresija nodrošina vienmērīgu fluorescences intensitāti un raksturu visās pasāžās, tādējādi padarot 14. klonu piemērotu kvantitatīviem attēlveidošanas testiem un mikrotubulu mērķa vielu augstas caurlaidspējas skrīningam.

Organism

Cilvēks

Tissue

Dzemdes kakls

Disease

Dzemdes kakla adenokarcinoma (HeLa fons); stabili transfekta ar GFP-EB3 (mikrotubulu plus-gala reportera gēns)

Applications

dzīvo šūnu mikrotubulu dinamikas attēlveidošana; mitotiskā vārpstiņa pētījumi; kinetohoru un mikrotubulu mijiedarbības izpēte; intracelulārais transports; mikrotubulām mērķēto zāļu skrīnings

Raksturojums

Morphology

Epitēlijevīdīgs

Cell type

Epitēlija šūnas

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

HeLa EB3-GFP Kirc 14 27.09.24 (Cytion kataloga numurs 305718)

Biosafety level

1

HeLa EB3 GFP KIRC14 šūnas | 305718

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	legūts no HeLa (CVCL_0030); GFP-EB3 apakšklons nav neatkarīgi klasificēts
GMO Status	GMO-S1: Šī HeLa EB3 GFP KIRC14 līnija satur ar GFP marķētu EB3 konstrukt, kas paredzēts mikrotubulu plus-gala izsekošanai dzīvo šūnu attēlveidošanā. Šī klasifikācija ir spēkā tikai Vācijā un citās valstīs tā var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase, 10 min., 37 °C
Doubling time	aptuveni 24 stundas
Subculturing	No pieklāvušajām šūnām noņemiet veco barotni un noskalojiet ar PBS. Pārlejiet ar Accutase, inkubējiet istabas temperatūrā 8–10 minūtes, atkārtoti suspendējiet barotnē, centrifugējiet 300×g 3 minūtes un pārnēsiet uz jaunām kolbām ar selekcijas barotni.
Split ratio	no 1 līdz 5
Seeding density	1 līdz 3×10^4 šūnas/cm ²
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.

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

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Maisījumu centrifugē pie 200 x g 5 minūtes, virsgatavumu, kas satur sasaldēšanas barotni, uzmanīgi izmet.
7. Veikt procedūru, kas aprakstīta sadaļā "Atjaunošana pēc atkausēšanas"

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze