

HeLa EB3 GFP KIRC14-cellen | 305718

Algemene informatie

Description

HeLa EB3-GFP Kirc 14 is een genetisch gemodificeerde afgeleide van de menselijke HeLa-baarmoederhalskankercellijn, die zo is ontworpen dat deze op stabiele wijze een met GFP gemerkt EB3-fusieconstruct (end-binding protein 3) tot expressie brengt, waarbij waarbij „Kirc 14“ verwijst naar een specifieke subkloon (kloon 14) die uit de getransfecteerde pool is geselecteerd. EB3 behoort tot de familie van end-binding-eiwitten die de plus-uiteinden van groeiende microtubuli volgen en fungeert als een reporter voor het dynamische gedrag van microtubuli in levende cellen. Het GFP-EB3-fusie-eiwit produceert karakteristieke, komeetachtige fluorescerende signalen aan de uiteinden van polymeriserende microtubuli, waardoor in realtime beeldvorming van levende cellen mogelijk is met betrekking tot de dynamiek van microtubuli, intracellulair transport en de organisatie van het cytoskelet.

HeLa EB3-GFP Kirc 14 wordt in celbiologisch onderzoek gebruikt voor het in levende cellen in beeld brengen van de dynamiek van de plus-uiteinden van microtubuli, voor studies naar de assemblage van de mitotische spindel en de interacties tussen kinetochoren en microtubuli, voor onderzoek naar het intracellulaire transport van lading en voor de evaluatie van verbindingen die de polymerisatiedynamiek van microtubuli beïnvloeden. De stabiele subklonale GFP-EB3-expressie zorgt voor een consistente fluorescentie-intensiteit en -patroon over verschillende passages heen, waardoor kloon 14 geschikt is voor kwantitatieve beeldvormingsassays en high-throughput-screening van middelen die zich richten op microtubuli.

Organism

Mens

Tissue

Baarmoederhals

Disease

Adenocarcinoom van de baarmoederhals (HeLa-achtergrond); stabiel getransfecteerd met GFP-EB3 (reporter voor het plus-uiteinde van microtubuli)

Applications

Beeldvorming van de dynamica van microtubuli in levende cellen; onderzoek naar de mitotische spindel; onderzoek naar de interactie tussen kinetochoren en microtubuli; intracellulair transport; screening van geneesmiddelen die zich richten op microtubuli

Kenmerken

Morphology

Epitheelachtig

Cell type

Epitheelcellen

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation

HeLa EB3-GFP Kirc 14 27-09-24 (Cytion-catalogusnummer 305718)

HeLa EB3 GFP KIRC14-cellen | 305718

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession Afgeleid van HeLa (CVCL_0030); GFP-EB3-subkloon niet afzonderlijk toegewezen

GMO Status GMO-S1: Deze HeLa EB3 GFP KIRC14-lijn bevat een met GFP gemerkt EB3-construct voor het volgen van het plus-uiteinde van microtubuli bij beeldvorming van levende cellen. Deze classificatie geldt uitsluitend binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Omgaan met

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase, 10 min., 37 °C

Doubling time ongeveer 24 uur

Subculturing Verwijder het oude medium van de aanhechtende cellen en was ze met PBS. Bedek ze met Accutase, incubeer ze 8-10 minuten bij kamertemperatuur, breng ze opnieuw in suspensie met medium, centrifugeer ze 3 minuten bij 300×g en breng ze over naar nieuwe kweekflessen met selectiemedium.

Split ratio 1 tot en met 5

Seeding density 1 tot 3×10^4 c^{ellen}/cm²
Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien.

HeLa EB3 GFP KIRC14-cellen | 305718

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open de gedesinfecteerde flacon voorzichtig en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 5 minuten bij 200 x g en gooi het supernatant met vriesmedium voorzichtig weg.
7. Volg de procedure beschreven onder Herstel na ontdooien

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse