

HeLa EB3 GFP KIRC14-celler | 305718

Generell informasjon

Description

HeLa EB3-GFP Kirc 14 er et genetisk modifisert avledet av den humane HeLa-cellelinjen for livmorhalskreft, utviklet for å uttrykke et GFP-merket EB3-fusjonskonstrukt (end-binding protein 3) på en stabil måte, med «Kirc 14» betegner en spesifikk subklon (klon 14) valgt ut fra den transfekterte puljen. EB3 tilhører familien av endebindende proteiner som sporer de voksende pluss-endene av mikrotubuli og fungerer som en indikator for dynamisk mikrotubuli-atferd i levende celler. GFP-EB3-fusjonsproteinet produserer karakteristiske kometlignende fluorescerende signaler ved spissene av polymeriserende mikrotubuli, noe som muliggjør avbildning av mikrotubulidynamikk, intracellulær transport og cytoskelettets organisering i levende celler i sanntid.

HeLa EB3-GFP Kirc 14 brukes i cellebiologisk forskning til avbildning av mikrotubuli-pluss-ende-dynamikk i levende celler, studier av mitotisk spindelmontering og kinetokor-mikrotubuli-interaksjoner, undersøkelser av intracellulær lasttransport og evaluering av forbindelser som påvirker mikrotubuli-polymerisasjonsdynamikken. Det stabile subklonale GFP-EB3-uttrykket gir jevn fluorescensintensitet og -mønster gjennom flere passasjer, noe som gjør klon 14 egnet for kvantitative avbildningsanalyser og høykapasitetsscreening av midler rettet mot mikrotubuli.

Organism

Menneskelig

Tissue

Livmorhalsen

Disease

Adenokarsinom i livmorhalsen (HeLa-bakgrunn); stabilt transifisert med GFP-EB3 (reporter for mikrotubulers pluss-ende)

Applications

Avbildning av mikrotubulidynamikk i levende celler; studier av mitotisk spindel; forskning på interaksjonen mellom kinetokorer og mikrotubuli; intracellulær transport; screening av legemidler rettet mot mikrotubuli

Kjennetegn

Morphology

Epitel-lignende

Cell type

Epitelceller

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

HeLa EB3-GFP Kirc 14 27.09.24 (Cytion-katalognummer 305718)

Biosafety level

1

HeLa EB3 GFP KIRC14-celler | 305718

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Avledet fra HeLa (CVCL_0030); GFP-EB3-subklon er ikke tildelt en egen betegnelse
GMO Status	GMO-S1: Denne HeLa EB3 GFP KIRC14-linjen inneholder et GFP-merket EB3-konstrukt for sporing av mikrotubulers pluss-ende ved avbildning av levende celler. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan være annerledes andre steder.

Biomolekylære data

Håndtering

Culture Medium	DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO ₃ , m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase, 10 min., 37 °C
Doubling time	ca. 24 timer
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de vedheftede cellene og vask med PBS. Tilsett Accutase, inkuber ved romtemperatur i 8–10 minutter, resuspender med medium, sentrifuger ved 300×g i 3 minutter, og overfør til nye kolber med seleksjonsmedium.
Split ratio	1 til 5
Seeding density	1 til 3×10^4 cell ^{er} /cm ²
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium + 10 % DMSO for å sikre tilstrekkelig levedyktighet etter optining.

HeLa EB3 GFP KIRC14-celler | 305718

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150°C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37°C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $200 \times g$ i 5 minutter, og kast supernatanten som inneholder frysemedium, forsiktig.
7. Følg prosedyren som er beskrevet under Post-Thaw Recovery

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellerlinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196°C . Lagring ved -80°C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse