

Komórki HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

Informacje ogólne

Description

HeLa EB3-GFP Kirc 14 to genetycznie zmodyfikowana odmiana ludzkiej linii komórkowej raka szyjki macicy HeLa, zaprojektowana tak, aby stabilnie ekspresjonować konstrukt fuzyjny EB3 (białko wiążące się z końcem mikrotubuli 3) oznaczony GFP, przy czym gdzie „Kirc 14” oznacza konkretny subklon (klon 14) wyselekcjonowany z puli transfekowanych komórek. EB3 należy do rodziny białek wiążących się z końcami mikrotubul, które śledzą rosnące końce plus mikrotubul i służą jako marker dynamicznego zachowania mikrotubul w żywych komórkach. Białko fuzyjne GFP-EB3 wytwarza charakterystyczne sygnały fluorescencyjne przypominające komety na końcach polimeryzujących mikrotubul, umożliwiając obrazowanie dynamiki mikrotubul, transportu wewnątrzkomórkowego oraz organizacji cytoszkieletu w żywych komórkach w czasie rzeczywistym.

HeLa EB3-GFP Kirc 14 jest wykorzystywany w badaniach z zakresu biologii komórkowej do obrazowania na żywo dynamiki końców plus mikrotubul, badań nad tworzeniem wrzeciona mitotycznego oraz interakcji kinetochorów z mikrotubulami, badań nad transportem ładunku wewnątrzkomórkowego oraz oceny związków chemicznych wpływających na dynamikę polimeryzacji mikrotubul. Stabilna subklonalna ekspresja GFP-EB3 zapewnia stałą intensywność i wzór fluorescencji w kolejnych pasażach, dzięki czemu klon 14 nadaje się do ilościowych testów obrazowania oraz do wysokoprzepustowego przesiewania środków ukierunkowanych na mikrotubule.

Organism

Człowiek

Tissue

Szyjka macicy

Disease

Rak gruczolowy szyjki macicy (na tle komórek HeLa); komórki poddane stabilnej transfekcji białkiem GFP-EB3 (reporter końcówki dodatniej mikrotubul)

Applications

Obrazowanie dynamiki mikrotubul w żywych komórkach; badania wrzeciona mitotycznego; badania nad interakcjami między kinetochorami a mikrotubulami; transport wewnątrzkomórkowy; badania przesiewowe leków kierowanych do mikrotubul

Charakterystyka

Morphology

Podobny do nabłonka

Cell type

Komórki nabłonkowe

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Citation

HeLa EB3-GFP Kirc 14 27.09.24 (numer katalogowy Cytion 305718)

Komórki HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** Pochodzi z linii HeLa (CVCL_0030); subklon GFP-EB3 nie został niezależnie oznaczony**GMO Status** GMO-S1: Linia komórkowa HeLa EB3 GFP KIRC14 zawiera konstrukt EB3 oznaczony białkiem GFP, służący do śledzenia plusowego końca mikrotubul w obrazowaniu żywych komórek. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może różnić się w innych krajach.**Dane biomolekularne****Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzupełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase, 10 min., 37°C**Doubling time** ok. 24 godziny**Subculturing** Usunąć stare pożywkę z komórek przylegających do podłoża i przepłukać je roztworem PBS. Zalać preparat roztworem Accutase, inkubować w temperaturze pokojowej przez 8–10 minut, zawiesić komórki w pożywce, odwirować przy 300×g przez 3 minuty, a następnie przenieść do świeżych kolb z pożywką selekcyjną.**Split ratio** od 1 do 5**Seeding density** od 1 do 3×10^4 komórek/cm²**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.

Komórki HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $200 \times g$ przez 5 minut, ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pożywkę do zamrażania.
7. Postępować zgodnie z procedurą opisaną w sekcji Odzyskiwanie po rozmrożeniu

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna