

HeLa EB3 GFP KIRC14-celler | 305718**Allmän information****Description**

HeLa EB3-GFP Kirc 14 är en genetiskt modifierad variant av den humana livmoderhalscancer cellinjen HeLa, som har konstruerats för att stabilt uttrycka en GFP-märkt EB3-fusionskonstruktion (end-binding protein 3), där "Kirc 14" betecknar en specifik subklon (klon 14) som valts ut från den transfekterade populationen. EB3 tillhör familjen av end-bindande proteiner som följer de växande plus-ändarna av mikrotubuli och fungerar som en markör för mikrotubulernas dynamiska beteende i levande celler. GFP-EB3-fusionsproteinet ger upphov till karakteristiska kometliknande fluorescerande signaler vid spetsarna på polymeriserande mikrotubuli, vilket möjliggör avbildning av mikrotubulidynamik, intracellulär transport och cytoskelettets organisation i levande celler i realtid.

HeLa EB3-GFP Kirc 14 används inom cellbiologisk forskning för avbildning av mikrotubulernas plusändsdynamik i levande celler, studier av mitotisk spindelbildning och interaktioner mellan kinetokorer och mikrotubuli, undersökningar av intracellulär transport av last samt utvärdering av föreningar som påverkar mikrotubulernas polymerisationsdynamik. Det stabila subklonala GFP-EB3-uttrycket ger en jämn fluorescensintensitet och ett jämnt mönster över flera passager, vilket gör klon 14 lämplig för kvantitativa avbildningsanalyser och högkapacitetsscreening av ämnen som riktar sig mot mikrotubuli.

Organism

Människan

Tissue

Cervix

Disease

Adenokarcinom i livmoderhalsen (HeLa-bakgrund); stabilt transfekterat med GFP-EB3 (reporter för mikrotubulernas plus-ände)

Applications

Avbildning av mikrotubulernas dynamik i levande celler; studier av mitotiska spindlar; forskning om interaktionen mellan kinetokorer och mikrotubuler; intracellulär transport; screening av läkemedel riktade mot mikrotubuler

Egenskaper**Morphology**

Epitelliknande

Cell type

Epiteliala celler

Growth properties

Följsam

Lagstadgade uppgifter**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	Härrör från HeLa (CVCL_0030); GFP-EB3-subklonen har inte tilldelats ett eget beteckningsnummer
GMO Status	GMO-S1: Denna HeLa EB3 GFP KIRC14-cellinje innehåller en GFP-märkt EB3-konstruktion för spårning av mikrotubulernas plusändar vid avbildning av levande celler. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt i andra länder.

Biomolekylära data**Hantering**

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase, 10 min., 37 °C
Doubling time	ca 24 timmar
Subculturing	Avlägsna det gamla odlingsmediet från de vidhäftade cellerna och skölj med PBS. Täck med Accutase, inkubera vid rumstemperatur i 8–10 minuter, resuspendera med odlingsmedium, centrifugera vid 300×g i 3 minuter och överför till nya kolvar med selektionsmedium.
Split ratio	1 till 5
Seeding density	1 till 3×10^4 cell ^{er} /cm ²
Fluid renewal	2 till 3 gånger per vecka
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining.

HeLa EB3 GFP KIRC14-celler | 305718

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödesbänk och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 200 x g i 5 minuter och kassera försiktigt supernatanten som innehåller frysmedium.
7. Följ den procedur som beskrivs under Post-Thaw Recovery

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekyllär analys