

Bunky HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718**Všeobecné informácie****Description**

HeLa EB3-GFP Kirc 14 je geneticky modifikovaný derivát ľudskej bunkovej línie HeLa pochádzajúcej z karcinómu krčka maternice, ktorý bol vytvorený tak, aby stabilne exprimoval fúzny konštrukt EB3 (end-binding protein 3) označený GFP, pričom „Kirc 14“ označuje špecifický subklon (klon 14) vybraný z transfekovaného súboru. EB3 patrí do rodiny end-binding proteínov, ktoré sledujú rastúce plusové konce mikrotubulov a slúžia ako indikátor dynamického správania mikrotubulov v živých bunkách. Fúzny proteín GFP-EB3 produkuje charakteristické fluorescenčné signály pripomínajúce kométy na koncoch polymerizujúcich mikrotubulov, čo umožňuje zobrazovanie dynamiky mikrotubulov, intracelulárneho transportu a organizácie cytoskeletu v živých bunkách v reálnom čase.

HeLa EB3-GFP Kirc 14 sa používa vo výskume bunkovej biológie na zobrazovanie dynamiky plusových koncov mikrotubulov v živých bunkách, na štúdium zostavovania mitotického vretena a interakcií medzi kinetochórom a mikrotubulmi, na skúmanie intracelulárneho transportu nákladu a na hodnotenie zlúčenín, ktoré ovplyvňujú dynamiku polymerizácie mikrotubulov. Stabilná subklonálna expresia GFP-EB3 zabezpečuje konzistentnú intenzitu a vzor fluorescence v priebehu pasáží, vďaka čomu je klon 14 vhodný na kvantitatívne zobrazovacie testy a vysokokapacitné skriningové testy látok zameraných na mikrotubuly.

Organism

Ľudské

Tissue

Cervix

Disease

Adenokarcinóm krčka maternice (na pozadí HeLa); stabilne transfekovaný GFP-EB3 (reporter plus-konca mikrotubulov)

Applications

Zobrazovanie dynamiky mikrotubulov v živých bunkách; štúdium mitotického vretena; výskum interakcie kinetochórov a mikrotubulov; intracelulárny transport; skrining liekov zameraných na mikrotubuly

Charakteristika**Morphology**

Epitelu podobné

Cell type

Epitelové bunky

Growth properties

Adherent

Regulačné údaje**Citation**

HeLa EB3-GFP Kirc 14 27. 9. 2024 (katalógové číslo Cytion 305718)

Biosafety level

1

Bunky HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Odvozené z HeLa (CVCL_0030); subklon GFP-EB3 nebol samostatne označený
GMO Status	GMO-S1: Táto línia HeLa EB3 GFP KIRC14 obsahuje konštrukt EB3 označený GFP na sledovanie plusového konca mikrotubulov pri zobrazovaní živých buniek. Táto klasifikácia platí iba v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.

Biomolekulárne údaje

Spracovanie

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase, 10 min., 37 °C
Doubling time	cca 24 hodín
Subculturing	Odstráňte staré médium z adhezívnych buniek a premyte ich PBS. Zalejte roztokom Accutase, inkubujte pri izbovej teplote 8–10 minút, resuspendujte v médiu, odstredte pri 300×g po dobu 3 minút a preneste do čerstvých fliaš so selekčným médiom.
Split ratio	1 až 5
Seeding density	1 až 3×10^4 buniek/cm ²
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne
Freeze medium	Ako médium na kryokonzerváciu používame kompletne rastové médium + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení.

Bunky HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 200 x g počas 5 minút, supernatant obsahujúci zmrazovacie médium opatrne zlikvidujte.
7. Postupujte podľa postupu opísaného v časti Obnova po rozmrazení

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza