

Celice HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718**Splošne informacije****Description**

HeLa EB3-GFP Kirc 14 je gensko spremenjena različica človeške celične linije HeLa, ki izvira iz karcinoma materničnega vratu, in je bila zasnovana za stabilno izražanje fuzijskega konstrukta EB3 (end-binding protein 3), označenega z GFP, pri čemer »Kirc 14« označuje specifičen podklon (klon 14), izbran iz transfektiranega sklopa. EB3 spada v družino end-binding proteinov, ki sledijo rastočim plus-koncem mikrotubulov in služijo kot indikator dinamičnega obnašanja mikrotubulov v živih celicah. Fuzijski protein GFP-EB3 ustvarja značilne kometu podobne fluorescenčne signale na konicah polimerizirajočih mikrotubulov, kar omogoča slikanje dinamike mikrotubulov, intracelularnega transporta in organizacije citoskeletov v živih celicah v realnem času.

HeLa EB3-GFP Kirc 14 se uporablja v raziskavah celične biologije za slikanje dinamike plus-koncev mikrotubulov v živih celicah, študije sestavljanja mitotičnega vretena in interakcij med kinetokori in mikrotubuli, preiskave intracelularnega transporta tovora ter ocenjevanje spojin, ki vplivajo na dinamiko polimerizacije mikrotubulov. Stabilna subklonska ekspresija GFP-EB3 zagotavlja dosledno intenzivnost in vzorec fluorescenca skozi vse pasáže, zaradi česar je klon 14 primeren za kvantitativne slikanske teste in presejanje z visoko zmogljivostjo sredstev, usmerjenih v mikrotubule.

Organism

Človek

Tissue

Maternični vrat

Disease

Adenokarcinom materničnega vratu (izvor HeLa); stabilno transfektiran z GFP-EB3 (reporter za plus-konec mikrotubulov)

Applications

Slikanje dinamike mikrotubulov v živih celicah; raziskave mitotičnega vretena; raziskave interakcij med kinetokori in mikrotubuli; intracelularni transport; presejanje zdravil, usmerjenih v mikrotubule

Značilnosti**Morphology**

Epitelijam podobni

Cell type

Epitelijske celice

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki**Citation**

HeLa EB3-GFP Kirc 14 27. 9. 24 (katalogska številka Cytion 305718)

Biosafety level

1

Celice HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Izpeljan iz HeLa (CVCL_0030); podklon GFP-EB3 ni bil samostojno označen
GMO Status	GMO-S1: Ta linija HeLa EB3 GFP KIRC14 vsebuje konstrukt EB3 z GFP-označbo za sledenje plus-konca mikrotubulov pri slikanju živih celic. Ta klasifikacija velja le v Nemčiji in se drugod lahko razlikuje.

Biomolekularni podatki**Ravnanje s spletno stranjo**

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase, 10 min., 37 °C
Doubling time	približno 24 ur
Subculturing	Staro gojišče odstranite s prirastlih celic in jih sperite s PBS. Prekrijte z Accutasejem, inkubirajte pri sobni temperaturi 8–10 minut, ponovno suspendirajte v gojišču, centrifugirajte pri 300×g 3 minute in prenesite v čiste kolbe s selekcijskim gojiščem.
Split ratio	1 do 5
Seeding density	1 do 3×10^4 celic/cm ²
Fluid renewal	2 do 3-krat na teden
Freeze medium	Kot gojišče za krioprezervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi.

Celice HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $200 \times g$ 5 minut, supernatant, ki vsebuje gojišče za zamrzovanje, previdno zavržite.
7. Izvedite postopek, opisan v poglavju Obnova po odmrzovanju

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza