

HeLa EB3 GFP KIRC14 Hücreleri | 305718

Genel bilgi

Description

HeLa EB3-GFP Kirc 14, insan HeLa servikal karsinom hücre hattının genetik olarak modifiye edilmiş bir türevidir ve GFP etiketli bir EB3 (uç bağlanma proteini 3) füzyon yapısını istikrarlı bir şekilde eksprese edecek şekilde tasarlanmıştır; burada "Kirc 14" ise transfekte edilmiş havuzdan seçilen spesifik bir alt klonu (klon 14) ifade eder. EB3, büyüyen mikrotübülün artı uçlarını takip eden ve canlı hücrelerde dinamik mikrotübül davranışının bir göstergesi olarak işlev gören uç bağlayıcı protein ailesinin bir üyesidir. GFP-EB3 füzyon proteini, polimerize olan mikrotübül uçlarında karakteristik kuyruklu yıldız benzeri floresan sinyaller üretir ve bu sayede mikrotübül dinamiği, hücre içi taşıma ve sitoskeletal organizasyonun canlı hücre görüntülemesi gerçek zamanlı olarak gerçekleştirilebilir.

HeLa EB3-GFP Kirc 14, hücre biyolojisi araştırmalarında mikrotübül artı uç dinamiklerinin canlı hücre görüntülemesi, mitotik iğ oluşumu ve kinetokor-mikrotübül etkileşimleri üzerine çalışmalar, hücre içi yük taşınımının araştırılması ve mikrotübül polimerizasyon dinamiklerini etkileyen bileşiklerin değerlendirilmesi amacıyla kullanılır. Kararlı subklonal GFP-EB3 ekspresyonu, pasajlar boyunca tutarlı bir floresan yoğunluğu ve paterni sağlar; bu da klon 14'ü kantitatif görüntüleme analizleri ve mikrotübül hedefli ajanların yüksek verimli taraması için uygun hale getirir.

Organism

İnsan

Tissue

Serviks

Disease

Servikal adenokarsinom (HeLa kökenli); GFP-EB3 (mikrotübül artı ucu raportörü) ile kalıcı olarak transfekte edilmiş

Applications

Canlı hücrelerde mikrotübül dinamiği görüntüleme; mitotik iğ çalışmaları; kinetokor-mikrotübül etkileşimi araştırmaları; hücre içi taşıma; mikrotübülü hedef alan ilaç taraması

Özellikler

Morphology

Epitel benzeri

Cell type

Epitel hücreleri

Growth properties

Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation

HeLa EB3-GFP Kirc 14 27.09.24 (Cytion katalog numarası 305718)

Biosafety level

1

HeLa EB3 GFP KIRC14 Hücreleri | 305718

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	HeLa'dan türetilmiştir (CVCL_0030); GFP-EB3 alt klonu bağımsız olarak tanımlanmamıştır
GMO Status	GMO-S1: Bu HeLa EB3 GFP KIRC14 suşu, canlı hücre görüntülemeye mikrotübülün artı ucunun izlenmesi için GFP etiketli bir EB3 konstrüksiyonu içerir. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya sınırları içinde geçerlidir ve başka ülkelerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Elleçleme

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)
Supplements	Ortamı %10 FBS ile takviye edin
Dissociation Reagent	Accutase, 10 dakika, 37°C
Doubling time	yaklaşık 24 saat
Subculturing	Yapışık hücrelerden eski besiyerini çıkarın ve PBS ile yıkayın. Accutase ekleyin, oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübe edin, besiyeri ile yeniden süspansiyon haline getirin, 300×g'de 3 dakika santrifüjleyin ve seçici besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.
Split ratio	1'den 5'e kadar
Seeding density	1 ila 3×10^4 hücre/cm ²
Fluid renewal	haftada 2 ila 3 kez
Freeze medium	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı + %10 DMSO kullanıyoruz.

HeLa EB3 GFP KIRC14 Hücreleri | 305718

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir ajan içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Karışımı 200 x g'de 5 dakika santrifüjleyin, dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Çözülme Sonrası Kurtarma altında açıklanan prosedürü izleyin

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz