

HK EB3-EGFP Hücreleri | 300668

Genel bilgi

Description

Hela Kyoto EB3-EGFP, Geliştirilmiş Yeşil Floresan Protein (EGFP) ile etiketlenmiş Uç Bağlayıcı Protein 3'ü (EB3) ifade etmek üzere özel olarak tasarlanmış HeLa Kyoto hücre hattının bir türevidir. Bu hücre hattı, mikrotübüllerin artı uçlarıyla birleşen bir protein olan EB3'ün floresan etiketlemesi nedeniyle mikrotübül dinamiklerini anlamaya odaklanan araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. EGFP'nin ifadesi, canlı hücrelerde mikrotübül davranışının floresan mikroskopu altında gerçek zamanlı görselleştirilmesine olanak tanıyan bir floresan işaretleyici sağlar.

Bu hücre hattı, hücre bölünmesi ve hücre içi taşıma mekaniğinin anlaşılmasının çok önemli olduğu hücre biyolojisi ve kanser araştırmalarında özellikle değerlidir. EB3-EGFP'nin kararlı ifadesi mikrotübüllerin normal işlevlerine müdahale etmez, bu da bu hücreleri mikrotübül dinamiklerine bağlı hücresel süreçlerin ayrıntılı çalışmalarını için güvenilir bir araç haline getirir.

Organism

İnsan

Tissue

Serviks

Disease

Karsinom

Synonyms

HeLa Kyoto EB3-EGFP, HeLa Kyoto EB3 EGFP, HeLa Kyoto EGFP-EB3

Özellikler

Age

30 yıl

Gender

Kadın

Ethnicity

Afro-Amerikan

Morphology

Mozaik taş şekilli epitel benzeri hücreler

Growth properties

Tek katmanlı, yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation

HK EB3-EGFP (Cytion katalog numarası 300668)

Biosafety level

1

HK EB3-EGFP Hücreleri | 300668**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D61**Depositor** Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Bu HeLa Kyoto EB3-EGFP hattı, dinamik mikrotübül görselleştirmesi için EGFP etiketli bir EB3 yapısı içerir. Bu sınıflandırma sadece Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.**Biyomoleküler Veriler****Protein expression** MEGFP (mikrotübül ucu bağlayıcı protein 3 mEGFP etiketli): Konum/Gen: 1..589 / Pcmv, 652..1497 / EB3, 1516..2235 / EGFP, 3466..4260 / KanR/NeoR**Products** CMV Promotor EB3, Neomisin, Fosfotransferaz**Elleçleme****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Seeding density** 1×10^4 hücre/cm²**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**Post-Thaw Recovery** Çözüldükten sonra, hücreleri 5×10^4 hücre/cm² olarak plakaya yerleştirin ve hücrelerin dondurma işleminden kurtulmasını ve en az 24 saat boyunca yapışmasını bekleyin.

HK EB3-EGFP Hücreleri | 300668**Freeze medium**

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

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 flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde 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 kriyovialleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

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

Flask Coating

Yok

Freezing Procedure

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.

HK EB3-EGFP Hücreleri | 300668

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 / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.