

Клітини HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

Загальна інформація

Description

HeLa EB3-GFP Kirc 14 — це генетично модифікований клон клітинної лінії HeLa, що походить від раку шийки матки людини, який було створено для стабільної експресії фузійної конструкції EB3 (білок, що зв'язується з кінцями мікротрубочок 3), міченої GFP, з «Kirc 14» позначає конкретний субклон (клон 14), відібраний із пулу трансфікованих клітин. EB3 належить до родини кінцевих зв'язувальних білків, які відстежують плюсові кінці зростаючих мікротрубочок і слугують індикатором динамічної поведінки мікротрубочок у живих клітинах. Фузійний білок GFP-EB3 генерує характерні флуоресцентні сигнали у формі комети на кінчиках полімеризуючих мікротрубочок, що дозволяє проводити візуалізацію динаміки мікротрубочок, внутрішньоклітинного транспорту та організації цитоскелету в живих клітинах у реальному часі.

HeLa EB3-GFP Kirc 14 використовується в дослідженнях з клітинної біології для візуалізації динаміки плюсових кінців мікротрубочок у живих клітинах, вивчення формування мітотичного веретена та взаємодій кінетохор-мікротрубочок, дослідження внутрішньоклітинного транспорту вантажу, а також оцінки сполук, що впливають на динаміку полімеризації мікротрубочок. Стабільна субклональна експресія GFP-EB3 забезпечує сталу інтенсивність та характер флуоресценції протягом усіх пасажів, що робить клон 14 придатним для кількісних візуалізаційних аналізів та високопродуктивного скринінгу агентів, що діють на мікротрубочки.

Organism

Людина

Tissue

Шийка матки

Disease

Аденокарцинома шийки матки (на тлі клітин HeLa); стабільно трансфікована GFP-EB3 (репортер плюсового кінця мікротрубочок)

Applications

Візуалізація динаміки мікротрубочок у живих клітинах; дослідження мітотичного веретена; дослідження взаємодії кінетохорів і мікротрубочок; внутрішньоклітинний транспорт; скринінг лікарських препаратів, що діють на мікротрубочки

Характеристики

Morphology

Епітеліальноподібні

Cell type

Епітеліальні клітини

Growth properties

Адепт

Нормативні дані

Citation

HeLa EB3-GFP Kirc 14 27.09.24 (номер у каталозі Cytion 305718)

Клітини HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** Отримано з клітин HeLa (CVCL_0030); субклону GFP-EB3 не присвоєно окремого номера**GMO Status** GMO-S1: Ця лінія HeLa EB3 GFP KIRC14 містить конструкцію EB3 з GFP-міткою для відстеження плюсового кінця мікротрубочок під час візуалізації живих клітин. Ця класифікація діє лише на території Німеччини і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Обробка

Culture Medium ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO₃, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase, 10 хв., 37 °C**Doubling time** приблизно 24 години**Subculturing** Видаліть старе середовище з прикріплених клітин і промийте їх PBS. Додайте Accutase, інкубуйте при кімнатній температурі протягом 8–10 хвилин, ресуспендуйте у середовищі, центрифугуйте при 300×g протягом 3 хвилин і перенесіть у нові колби з селективним середовищем.**Split ratio** від 1 до 5**Seeding density** від 1 до 3×10^4 клітин/см²**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень**Freeze medium** В якості середовища для криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після розморожування.

Клітини HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Центрифугуйте суміш при $200 \times g$ протягом 5 хвилин, обережно відкиньте надосадову рідину, що містить заморожувальне середовище.
7. Виконайте процедуру, описану в розділі Відновлення після відтавання

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

**Shipping
Conditions**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

**Storage
Conditions**

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196°C . Зберігання при -80°C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз