Product sheet

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/$см^2$
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Freeze medium	В якості середовища для кріоконсервування 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, зануривши 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 x 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% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній 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