

Клітини НК EB3-EGFP | 300668

Загальна інформація

Description

HeLa Kyoto EB3-EGFP - це похідна клітинної лінії HeLa Kyoto, спеціально сконструйована для експресії кінцевого зв'язуючого білка 3 (EB3), міченого посиленням зеленим флуоресцентним білком (EGFP). Ця лінія клітин широко використовується в дослідженнях, спрямованих на вивчення динаміки мікротрубочок, завдяки флуоресцентному міченню EB3, білка, який асоціюється з позитивними кінцями мікротрубочок. Експресія EGFP забезпечує флуоресцентний маркер, який дозволяє в реальному часі візуалізувати поведінку мікротрубочок в живих клітинах під флуоресцентним мікроскопом.

Ця клітинна лінія є особливо цінною в клітинній біології та дослідженнях раку, де розуміння механізму клітинного поділу та внутрішньоклітинного транспорту має вирішальне значення. Стабільна експресія EB3-EGFP не заважає нормальному функціонуванню мікротрубочок, що робить ці клітини надійним інструментом для детального вивчення клітинних процесів, які залежать від динаміки мікротрубочок.

Organism Людина

Tissue Шийка матки

Disease Карцинома

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

Характеристики

Age 30 років

Gender Жінка

Ethnicity Афроамериканець

Morphology Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю

Growth properties Одношаровий, адгезійний

Нормативні дані

Citation НК EB3-EGFP (номер за каталогом Cytion 300668)

Biosafety level 1

Клітини НК EB3-EGFP | 300668

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D61**Depositor** Лабораторія Елленберга (EMBL)**GMO Status** ГМО-S1: Ця лінія HeLa Kyoto EB3-EGFP містить EGFP-мічену конструкцію EB3 для динамічної візуалізації мікротрубочок. Ця класифікація застосовується тільки в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Protein expression MEGFP (мікротрубочковий кінцевий зв'язуючий білок 3, мічений mEGFP): Розташування/ген: 1..589 / Pcmv, 652.1497 / EB3, 1516.2235 / EGFP, 3466.4260 / KanR/NeoR**Products** Промотор CMV EB3, неомицин, фосфотрансфераза

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** Аккутаза**Subculturing** Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.**Seeding density** 1×10^4 клітин/см²**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень**Post-Thaw Recovery** Після розморожування висійте клітини з щільністю 5×10^4 клітин/см² і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.

Клітини НК EB3-EGFP | 300668

Freeze medium

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

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. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

Клітини НК EB3-EGFP | 300668

Freezing Procedure

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 негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

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 негайно перемістіть віали у відповідне місце для 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 / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазموю виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.