

## 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, неоміцин, фосфотрансфераза

## Обробка

**Culture Medium** ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO<sub>3</sub>, 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**  $1 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень**Post-Thaw Recovery** Після розморожування висійте клітини з щільністю  $5 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup> 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 CM-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  $-150^{\circ}\text{C}$ , 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  $37^{\circ}\text{C}$ , 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**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

**Flask Coating**

Hi

## 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 мікоплазмою 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.