

Células HK EB3-EGFP | 300668**Información general****Description**

HeLa Kyoto EB3-EGFP es un derivado de la línea celular HeLa Kyoto, específicamente diseñada para expresar la proteína de unión terminal 3 (EB3) marcada con la proteína fluorescente verde mejorada (EGFP). Esta línea celular se utiliza habitualmente en la investigación centrada en la comprensión de la dinámica de los microtúbulos debido al marcado fluorescente de EB3, una proteína que se asocia con los extremos positivos de los microtúbulos. La expresión de EGFP proporciona un marcador fluorescente que permite la visualización en tiempo real del comportamiento de los microtúbulos en células vivas bajo un microscopio de fluorescencia.

Esta línea celular es especialmente valiosa en la biología celular y la investigación del cáncer, donde es crucial comprender la mecánica de la división celular y el transporte intracelular. La expresión estable de EB3-EGFP no interfiere con las funciones normales de los microtúbulos, lo que convierte a estas células en una herramienta fiable para estudios detallados de los procesos celulares que dependen de la dinámica de los microtúbulos.

Organism Humano**Tissue** Cérvix**Disease** Carcinoma**Synonyms** HeLa Kyoto EB3-EGFP, HeLa Kyoto EB3 EGFP, HeLa Kyoto EGFP-EB3**Características****Age** 30 años**Gender** Mujer**Ethnicity** Afroamericanos**Morphology** Células de aspecto epitelial con forma de piedra en mosaico**Growth properties** Monocapa, adherente**Datos reglamentarios****Citation** HK EB3-EGFP (número de catálogo de Cytion 300668)**Biosafety level** 1

Células HK EB3-EGFP | 300668**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D61**Depositor** Laboratorio Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Esta línea EB3-EGFP de HeLa Kyoto contiene un constructo EB3 marcado con EGFP para la visualización dinámica de microtúbulos. Esta clasificación solo se aplica en Alemania y puede diferir en otros países.**Datos biomoleculares****Protein expression** MEGFP (microtubule End-binding protein 3 mEGFP tagged): Localización/Gen: 1..589 / Pcmv, 652..1497 / EB3, 1516..2235 / EGFP, 3466..4260 / KanR/NeoR**Products** CMV Promotor EB3, Neomicina, Fosfotransferasa**Manejo de****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO₃, w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)**Supplements** Complementar el medio con un 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.**Split ratio** Se recomienda una proporción de 1:3**Seeding density** 1×10^4 células/cm²**Fluid renewal** de 2 a 3 veces por semana

Células HK EB3-EGFP | 300668

Post-Thaw Recovery

Después de descongelar, siembre las células a 5×10^4 células/cm² y deje que las células se recuperen del proceso de congelación y se adhieran durante al menos 24 horas.

Freeze medium

Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmósfera humidificada.

Flask Coating

Ninguno

Células HK EB3-EGFP | 300668

Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.