

Cellules HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718**Informations générales****Description**

HeLa EB3-GFP Kirc 14 est un dérivé génétiquement modifié de la lignée cellulaire HeLa issue d'un carcinome cervical humain, conçu pour exprimer de manière stable une construction de fusion EB3 (protéine de liaison aux extrémités 3) marquée par la GFP, avec « Kirc 14 » désignant un sous-clone spécifique (clone 14) sélectionné parmi le pool transfecté. L'EB3 fait partie de la famille des protéines de liaison aux extrémités qui suivent les extrémités « plus » des microtubules en croissance et sert de marqueur pour le comportement dynamique des microtubules dans les cellules vivantes. La protéine de fusion GFP-EB3 produit des signaux fluorescents caractéristiques en forme de comète à l'extrémité des microtubules en cours de polymérisation, permettant ainsi l'imagerie en temps réel de la dynamique des microtubules, du transport intracellulaire et de l'organisation du cytosquelette dans des cellules vivantes.

HeLa EB3-GFP Kirc 14 est utilisé en recherche en biologie cellulaire pour l'imagerie en cellules vivantes de la dynamique des extrémités « plus » des microtubules, les études sur l'assemblage du fuseau mitotique et les interactions entre les kinétochores et les microtubules, les recherches sur le transport intracellulaire de cargaisons, ainsi que l'évaluation de composés affectant la dynamique de polymérisation des microtubules. L'expression subclonale stable de GFP-EB3 garantit une intensité et un profil de fluorescence constants d'un passage à l'autre, ce qui rend le clone 14 adapté aux tests d'imagerie quantitative et au criblage à haut débit d'agents ciblant les microtubules.

Organism

Humain

Tissue

Col de l'utérus

Disease

Adénocarcinome cervical (lignée HeLa) ; transfecté de manière stable avec GFP-EB3 (marqueur de l'extrémité « plus » des microtubules)

Applications

Imagerie de la dynamique des microtubules dans des cellules vivantes ; études sur le fuseau mitotique ; recherche sur les interactions entre les kinétochores et les microtubules ; transport intracellulaire ; criblage de médicaments ciblant les microtubules

Caractéristiques**Morphology**

De type épithélial

Cell type

Cellules épithéliales

Growth properties

Adhérent

Données réglementaires**Citation**

HeLa EB3-GFP Kirc 14 27/09/24 (référence Cytion 305718)

Cellules HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Issu de la lignée HeLa (CVCL_0030) ; sous-clone GFP-EB3 non attribué de manière indépendante
GMO Status	GMO-S1 : Cette lignée HeLa EB3 GFP KIRC14 contient une construction EB3 marquée par la GFP permettant le suivi de l'extrémité positive des microtubules en imagerie de cellules vivantes. Cette classification s'applique uniquement en Allemagne et peut varier dans d'autres pays.

Données biomoléculaires**Manipulation**

Culture Medium	DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO ₃ , w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase, 10 min, 37 °C
Doubling time	environ 24 heures
Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS. Recouvrez-les d'Accutase, incubez à température ambiante pendant 8 à 10 minutes, remettez-les en suspension dans du milieu, centrifugez à 300 × g pendant 3 minutes, puis transférez-les dans des flacons neufs contenant du milieu de sélection.
Split ratio	1 à 5
Seeding density	1 à 3 × 10 ⁴ cellules/cm ²
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation.

Cellules HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 200 x g pendant 5 minutes, jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation.
7. Suivre la procédure décrite sous Récupération après décongélation

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire