

Cellules HK EB3-EGFP | 300668

Informations générales

Description

HeLa Kyoto EB3-EGFP est un dérivé de la lignée cellulaire HeLa Kyoto, spécialement conçue pour exprimer la protéine de liaison aux extrémités 3 (EB3) marquée avec la protéine fluorescente verte améliorée (EGFP). Cette lignée cellulaire est couramment utilisée dans les recherches visant à comprendre la dynamique des microtubules en raison du marquage fluorescent de EB3, une protéine qui s'associe aux extrémités plus des microtubules. L'expression de l'EGFP fournit un marqueur fluorescent qui permet de visualiser en temps réel le comportement des microtubules dans les cellules vivantes au microscope à fluorescence.

Cette lignée cellulaire est particulièrement utile en biologie cellulaire et en recherche sur le cancer, où la compréhension des mécanismes de la division cellulaire et du transport intracellulaire est cruciale. L'expression stable de EB3-EGFP n'interfère pas avec les fonctions normales des microtubules, ce qui fait de ces cellules un outil fiable pour des études détaillées des processus cellulaires qui dépendent de la dynamique des microtubules.

Organism Humain

Tissue Col de l'utérus

Disease Carcinome

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

Caractéristiques

Age 30 ans

Gender Femme

Ethnicity Afro-américain

Morphology Cellules de type épithélial avec une forme de pierre en mosaïque

Growth properties Monocouche, adhérente

Données réglementaires

Citation HK EB3-EGFP (numéro de catalogue Cytion 300668)

Biosafety level 1

Cellules HK EB3-EGFP | 300668

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D61
Depositor	Le laboratoire Ellenberg (EMBL)
GMO Status	OGM-S1 : Cette lignée HeLa Kyoto EB3-EGFP contient une construction EB3 marquée EGFP pour la visualisation dynamique des microtubules. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut différer dans d'autres pays.

Données biomoléculaires

Protein expression	MEGFP (microtubule End-binding protein 3 mEGFP tagged) : Localisation/Gène : 1..589 / Pcmv, 652..1497 / EB3, 1516..2235 / EGFP, 3466..4260 / KanR/NeoR
Products	Promoteur EB3 du CMV, néomycine, phosphotransférase

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
-----------------------------	----------

Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
---------------------	--

Split ratio	Un rapport de 1:3 est recommandé
--------------------	----------------------------------

Seeding density	1 x 10 ⁴ cellules/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
----------------------	------------------------

Cellules HK EB3-EGFP | 300668

Post-Thaw Recovery

Après décongélation, ensemercer les cellules à raison de 5×10^4 cellules/cm² et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

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 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Cellules HK EB3-EGFP | 300668

Freezing Procedure

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.

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 de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.