

Cellule HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718**Informazioni generali****Description**

HeLa EB3-GFP Kirc 14 è un derivato geneticamente modificato della linea cellulare umana HeLa, derivata dal carcinoma cervicale, ingegnerizzata per esprimere in modo stabile un costrutto di fusione EB3 (end-binding protein 3) marcato con GFP, con "Kirc 14" indica uno specifico sottoclone (clone 14) selezionato dal pool trasfettato. L'EB3 appartiene alla famiglia delle proteine di legame terminale che seguono le estremità positive dei microtubuli in crescita e funge da indicatore del comportamento dinamico dei microtubuli nelle cellule vive. La proteina di fusione GFP-EB3 produce caratteristici segnali fluorescenti simili a comete alle estremità dei microtubuli in fase di polimerizzazione, consentendo l'imaging in tempo reale delle dinamiche dei microtubuli, del trasporto intracellulare e dell'organizzazione del citoscheletro nelle cellule vive.

HeLa EB3-GFP Kirc 14 viene utilizzato nella ricerca di biologia cellulare per l'imaging su cellule vive delle dinamiche delle estremità positive dei microtubuli, per studi sull'assemblaggio del fuso mitotico e sulle interazioni tra cinetocori e microtubuli, per indagini sul trasporto intracellulare di carichi e per la valutazione di composti che influenzano le dinamiche di polimerizzazione dei microtubuli. L'espressione subclonale stabile di GFP-EB3 garantisce un'intensità e un pattern di fluorescenza costanti nel corso dei passaggi, rendendo il clone 14 adatto a test di imaging quantitativo e allo screening ad alta produttività di agenti mirati ai microtubuli.

Organism

Umano

Tissue

Cervice

Disease

Adenocarcinoma cervicale (di origine HeLa); trasfettato in modo stabile con GFP-EB3 (reporter dell'estremità positiva dei microtubuli)

Applications

Immagistica della dinamica dei microtubuli nelle cellule vive; studi sul fuso mitotico; ricerca sull'interazione tra cinetocori e microtubuli; trasporto intracellulare; screening di farmaci mirati ai microtubuli

Caratteristiche**Morphology**

Simile all'epitelio

Cell type

Cellule epiteliali

Growth properties

Aderente

Dati normativi**Citation**

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

Biosafety level

1

Cellule HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Derivato da HeLa (CVCL_0030); sottoclone GFP-EB3 non assegnato in modo indipendente
GMO Status	GMO-S1: Questa linea HeLa EB3 GFP KIRC14 contiene un costrutto EB3 marcato con GFP per il tracciamento dell'estremità positiva dei microtubuli nell'imaging di cellule vive. Questa classificazione è valida solo in Germania e potrebbe differire in altri paesi.

Dati biomolecolari**Manipolazione**

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO ₃ , w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
Dissociation Reagent	Accutase, 10 min., 37 °C
Doubling time	circa 24 ore
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno di coltura dalle cellule aderenti e lavarle con PBS. Coprire con Accutase, incubare a temperatura ambiente per 8-10 minuti, risospendere nel terreno di coltura, centrifugare a 300×g per 3 minuti e trasferire in fiasche nuove contenenti terreno di selezione.
Split ratio	Da 1 a 5
Seeding density	da 1 a 3×10^4 cellule/cm ²
Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo + 10% DMSO per ottenere un'adeguata vitalità post-scongelo.

Cellule HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 200 x g per 5 minuti, scartando con cura il surnatante contenente il terreno di congelamento.
7. Seguire la procedura descritta in Recupero post-scongelo

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare