

Cellule HK EB3-EGFP | 300668

Informazioni generali

Description

Hela Kyoto EB3-EGFP è un derivato della linea cellulare HeLa Kyoto, specificamente ingegnerizzato per esprimere la End-Binding Protein 3 (EB3) marcata con Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP). Questa linea cellulare è comunemente utilizzata nella ricerca incentrata sulla comprensione della dinamica dei microtubuli, grazie alla marcatura fluorescente di EB3, una proteina che si associa alle estremità positive dei microtubuli. L'espressione di EGFP fornisce un marcatore fluorescente che consente la visualizzazione in tempo reale del comportamento dei microtubuli in cellule vive al microscopio a fluorescenza.

Questa linea cellulare è particolarmente preziosa nella biologia cellulare e nella ricerca sul cancro, dove la comprensione della meccanica della divisione cellulare e del trasporto intracellulare è fondamentale. L'espressione stabile di EB3-EGFP non interferisce con le normali funzioni dei microtubuli, rendendo queste cellule uno strumento affidabile per studi dettagliati dei processi cellulari che dipendono dalla dinamica dei microtubuli.

Organism Umano

Tissue Cervice

Disease Carcinoma

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

Caratteristiche

Age 30 anni

Gender Donna

Ethnicity Afroamericano

Morphology Cellule simili a quelle epiteliali con forma di pietra a mosaico

Growth properties Monostrato, aderente

Dati normativi

Citation HK EB3-EGFP (numero di catalogo Cytion 300668)

Biosafety level 1

Cellule HK EB3-EGFP | 300668

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D61**Depositor** Il laboratorio Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Questa linea HeLa Kyoto EB3-EGFP contiene un costrutto EB3 marcato EGFP per la visualizzazione dinamica dei microtubuli. Questa classificazione si applica solo in Germania e può differire altrove.

Dati biomolecolari

Protein expression MEGFP (microtubule End-binding protein 3 mEGFP tagged): Posizione/Gene: 1..589 / Pcmv, 652..1497 / EB3, 1516..2235 / EGFP, 3466..4260 / KanR/NeoR**Products** Promotore CMV EB3, Neomicina, Fosfotransferasi

Manipolazione

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, 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**Subculturing** Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Split ratio** Si raccomanda un rapporto di 1:3**Seeding density** 1×10^4 cellule/cm²**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana**Post-Thaw Recovery** Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5×10^4 cellule/cm² e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.

Cellule HK EB3-EGFP | 300668

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

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 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

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.

Cellule HK EB3-EGFP | 300668

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 di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.