

Células HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718**Informações gerais****Description**

A HeLa EB3-GFP Kirc 14 é um derivado geneticamente modificado da linha celular humana HeLa de carcinoma cervical, concebida para expressar de forma estável uma construção de fusão de EB3 (proteína de ligação terminal 3) marcada com GFP, com «Kirc 14» a designar um subclone específico (clone 14) selecionado do conjunto de células transfectadas. A EB3 é um membro da família das proteínas de ligação às extremidades que acompanha as extremidades positivas dos microtúbulos em crescimento e serve como marcador do comportamento dinâmico dos microtúbulos em células vivas. A proteína de fusão GFP-EB3 produz sinais fluorescentes característicos, semelhantes a cometas, nas pontas dos microtúbulos em polimerização, permitindo a obtenção de imagens em tempo real da dinâmica dos microtúbulos, do transporte intracelular e da organização do citoesqueleto em células vivas.

O HeLa EB3-GFP Kirc 14 é utilizado na investigação em biologia celular para a obtenção de imagens em células vivas da dinâmica das extremidades positivas dos microtúbulos, estudos sobre a montagem do fuso mitótico e as interações entre o cinetocoro e os microtúbulos, investigações sobre o transporte intracelular de carga e avaliação de compostos que afetam a dinâmica da polimerização dos microtúbulos. A expressão subclonal estável de GFP-EB3 proporciona uma intensidade e um padrão de fluorescência consistentes ao longo das passagens, tornando o clone 14 adequado para ensaios de imagem quantitativa e triagem de alto rendimento de agentes que têm como alvo os microtúbulos.

Organism

Humano

Tissue

Colo do útero

Disease

Adenocarcinoma cervical (de origem HeLa); transfectado de forma estável com GFP-EB3 (reportero da extremidade positiva dos microtúbulos)

Applications

Imagiologia da dinâmica dos microtúbulos em células vivas; estudos do fuso mitótico; investigação sobre a interação entre o cinetocoro e os microtúbulos; transporte intracelular; triagem de fármacos direcionados aos microtúbulos

Caraterísticas**Morphology**

De tipo epitelial

Cell type

Células epiteliais

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares**Citation**

HeLa EB3-GFP Kirc 14 27/09/24 (número de catálogo da Cytion 305718)

Células HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Derivado de HeLa (CVCL_0030); subclone GFP-EB3 não atribuído de forma independente
GMO Status	GMO-S1: Esta linha HeLa EB3 GFP KIRC14 contém uma construção EB3 marcada com GFP para o rastreio da extremidade positiva dos microtúbulos em imagiologia de células vivas. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares**Manuseamento**

Culture Medium	DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Completar o meio com 10% de FBS
--------------------	---------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase, 10 min., 37 °C
-----------------------------	--------------------------

Doubling time	cerca de 24 horas
----------------------	-------------------

Subculturing	Retire o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS. Cubra com Accutase, incube à temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos, ressuspensa com meio, centrifugue a 300×g durante 3 minutos e transfira para frascos novos com meio de seleção.
---------------------	---

Split ratio	1 a 5
--------------------	-------

Seeding density	1 a 3×10^4 células/cm ²
------------------------	---

Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
----------------------	------------------------

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo + 10% de DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada.
----------------------	---

Células HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $200 \times g$ durante 5 minutos e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação.
7. Seguir o procedimento descrito em Recuperação pós-descongelamento

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196°C . O armazenamento a -80°C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular