

Células HK EB3-EGFP | 300668**Informações gerais****Description**

A HeLa Kyoto EB3-EGFP é um derivado da linha celular HeLa Kyoto, especificamente concebida para exprimir a Proteína de Ligação Final 3 (EB3) marcada com Proteína Fluorescente Verde Melhorada (EGFP). Esta linha celular é habitualmente utilizada em investigação centrada na compreensão da dinâmica dos microtúbulos devido à marcação fluorescente da EB3, uma proteína que se associa às extremidades positivas dos microtúbulos. A expressão de EGFP fornece um marcador fluorescente que permite a visualização em tempo real do comportamento dos microtúbulos em células vivas sob um microscópio de fluorescência.

Esta linha celular é particularmente valiosa na investigação em biologia celular e cancro, onde a compreensão da mecânica da divisão celular e do transporte intracelular é crucial. A expressão estável de EB3-EGFP não interfere com as funções normais dos microtúbulos, tornando estas células uma ferramenta fiável para estudos detalhados dos processos celulares que dependem da dinâmica dos microtúbulos.

Organism Humano**Tissue** Colo do útero**Disease** Carcinoma**Synonyms** HeLa Kyoto EB3-EGFP, HeLa Kyoto EB3 EGFP, HeLa Kyoto EGFP-EB3**Caraterísticas****Age** 30 anos**Gender** Feminino**Ethnicity** Afro-americano**Morphology** Células de tipo epitelial com forma de pedra em mosaico**Growth properties** Monocamada, aderente**Dados regulamentares****Citation** HK EB3-EGFP (número de catálogo Cytion 300668)**Biosafety level** 1

Células HK EB3-EGFP | 300668**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D61**Depositor** O Laboratório Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Esta linha HeLa Kyoto EB3-EGFP contém uma construção EB3 marcada com EGFP para visualização dinâmica dos microtúbulos. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode ser diferente noutros países.**Dados biomoleculares****Protein expression** MEGFP (proteína de ligação terminal de microtúbulos 3 marcada com mEGFP): Localização/Gene: 1..589 / Pcmv, 652..1497 / EB3, 1516..2235 / EGFP, 3466..4260 / KanR/NeoR**Products** Promotor EB3 do CMV, Neomicina, Fosfotransferase**Manuseamento****Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density** 1×10^4 células/cm²**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Post-Thaw Recovery** Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

Células HK EB3-EGFP | 300668

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

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 $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Células HK EB3-EGFP | 300668

Freezing Procedure

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.

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 / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.