

**Cellules HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718****Renseignements généraux****Description**

HeLa EB3-GFP Kirc 14 est un dérivé génétiquement modifié de la lignée cellulaire HeLa de carcinome cervical humain, conçu pour exprimer de manière stable une construction de fusion EB3 (protéine de liaison aux extrémités 3) marquée par la GFP, avec « Kirc 14 » désignant un sous-clone spécifique (clone 14) sélectionné parmi le groupe de cellules transfectées. L'EB3 fait partie de la famille des protéines de liaison aux extrémités qui suivent les extrémités « plus » des microtubules en croissance et sert d'indicateur du comportement dynamique des microtubules dans les cellules vivantes. La protéine de fusion GFP-EB3 produit des signaux fluorescents caractéristiques en forme de comète à l'extrémité des microtubules en cours de polymérisation, ce qui permet l'imagerie en temps réel de la dynamique des microtubules, du transport intracellulaire et de l'organisation du cytosquelette dans des cellules vivantes.

HeLa EB3-GFP Kirc 14 est utilisé en recherche en biologie cellulaire pour l'imagerie en cellules vivantes de la dynamique des extrémités « plus » des microtubules, l'étude de l'assemblage du fuseau mitotique et des interactions entre les kinétochores et les microtubules, l'étude du transport intracellulaire de cargaisons, ainsi que l'évaluation de composés qui influencent la dynamique de polymérisation des microtubules. L'expression subclonale stable de GFP-EB3 assure une intensité et un profil de fluorescence constants d'un passage à l'autre, ce qui rend le clone 14 adapté aux essais d'imagerie quantitative et au criblage à haut débit d'agents ciblant les microtubules.

**Organism**

Humain

**Tissue**

Col de l'utérus

**Disease**

Adénocarcinome cervical (lignée HeLa); transfecté de manière stable avec GFP-EB3 (marqueur de l'extrémité positive des microtubules)

**Applications**

Imagerie de la dynamique des microtubules dans des cellules vivantes; études sur le fuseau mitotique; recherche sur l'interaction entre les kinétochores et les microtubules; transport intracellulaire; criblage de médicaments ciblant les microtubules

**Caractéristiques****Morphology**

De type épithélial

**Cell type**

Cellules épithéliales

**Growth properties**

Adepté

**Données réglementaires****Citation**

HeLa EB3-GFP Kirc 14 27/09/24 (numéro de catalogue Cytion 305718)

**Cellules HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** Dérivé de HeLa (CVCL\_0030); sous-clone GFP-EB3 non désigné de façon indépendante**GMO Status** GMO-S1 : Cette lignée HeLa EB3 GFP KIRC14 contient une construction EB3 marquée par la GFP permettant le suivi de l'extrémité positive des microtubules lors de l'imagerie de cellules vivantes. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut varier ailleurs.**Données biomoléculaires****Manipulation****Culture Medium** DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)**Supplements** Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture**Dissociation Reagent** Accutase, 10 min, 37 °C**Doubling time** environ 24 heures**Subculturing** Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS. Recouvrez-les d'Accutase, incubez à température ambiante pendant 8 à 10 minutes, remettez-les en suspension dans du milieu, centrifugez à 300 × g pendant 3 minutes, puis transférez-les dans des flacons neufs contenant du milieu de sélection.**Split ratio** 1 à 5**Seeding density** de 1 à 3 × 10<sup>4</sup> cellules/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet additionné de 10 % de DMSO afin d'assurer une viabilité adéquate après décongélation.

### Cellules HeLa EB3 GFP KIRC14 | 305718

#### Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 200 x g pendant 5 minutes, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation.
7. Suivre la procédure décrite dans la section « Récupération après décongélation ».

#### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO<sub>2</sub>, atmosphère humidifiée.

#### Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

#### Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

### Contrôle de la qualité et analyse moléculaire