

Células HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry | 300921

Información general

Description

La línea celular HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry es un modelo celular derivado de HeLa Kyoto genéticamente modificado y desarrollado para facilitar estudios avanzados sobre la dinámica nuclear y la organización de la cromatina en células vivas. Esta línea celular expresa dos proteínas de fusión: EGFP (proteína fluorescente verde mejorada) fusionada con la Lámina A, y mCherry (una proteína fluorescente roja) fusionada con la Histona H2B. La fusión EGFP-Lamina A resalta la envoltura nuclear y permite visualizar los cambios en la arquitectura nuclear durante la progresión del ciclo celular o en diversas condiciones experimentales. Por su parte, la proteína de fusión H2B-mCherry se une al ADN y proporciona una intensa fluorescencia roja que marca la cromatina, permitiendo la observación en tiempo real de los procesos cromosómicos durante la mitosis y la interfase.

Estas células tienen un valor incalculable para aplicaciones de imagen en tiempo real, incluidos estudios sobre la integridad nuclear, la replicación del ADN y el envejecimiento celular, así como para la investigación de enfermedades en las que la arquitectura nuclear está alterada, como el cáncer y las laminopatías. La fluorescencia bicolor de esta línea celular permite la visualización simultánea de la envoltura nuclear y de la cromatina, lo que facilita una comprensión exhaustiva de las interacciones núcleo-citoplasma y de la organización espaciotemporal de la cromatina. Estas capacidades la convierten en una herramienta fundamental para la investigación en biología molecular y biofísica celular, que permite comprender la mecánica de la regulación de la expresión génica, la organización nuclear y el ciclo celular.

Organism Humano

Tissue Cérvix

Disease Carcinoma

Synonyms HeLa Kyoto EGFP-LaminaA y H2B-mCherry

Características

Age 30 años

Gender Mujer

Ethnicity Afroamericanos

Morphology Células de aspecto epitelial con forma de piedra en mosaico

Growth properties Monocapa, adherente

Datos reglamentarios

Células HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry | 300921

Citation	HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry (número de catálogo de Cytion 300921)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D62
Depositor	Laboratorio Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Esta línea HeLa Kyoto contiene construcciones EGFP-Lamin A y H2B-mCherry que permiten la obtención de imágenes en dos colores de la lámina nuclear y la cromatina. Esta clasificación solo es válida en Alemania y puede diferir en otros países.

Datos biomoleculares

Protein expression	EGFP-LaminaA/H2B-mCherry
Products	Histona H2B

Manejo de

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)
Supplements	Complementar el medio con un 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.
Split ratio	Se recomienda una proporción de 1:3
Seeding density	1 x 10 ⁴ células/cm ²

Células HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry | 300921

Fluid renewal de 2 a 3 veces por semana

Post-Thaw Recovery Después de descongelar, siembre las células a 5×10^4 células/cm² y deje que las células se recuperen del proceso de congelación y se adhieran durante al menos 24 horas.

Freeze medium Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, atmósfera humidificada.

Flask Coating Ninguno

Células HK EGFP-LaminaA/H2B-mCherry | 300921

Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

Alelos HLA

A*: '68:02:01
B*: '15:03:01
C*: '12:03:01
DRB1*: '01:02:01
DQA1*: '01:01:02
DQB1*: '05:01:01
DPB1*: '01:01:01
E: '01:03:02