

Células HK EGFP-alfa-tubulina/H2B-mCherry | 300670**Información general****Description**

La línea celular HK EGFP-alfa-tubulina/H2B-mCherry HeLa Kyoto es un modelo meticulosamente diseñado para la visualización detallada de los procesos celulares. Esta línea clonal ha sido transfectada de forma estable para expresar dos fusiones de proteínas fluorescentes que permiten obtener imágenes en tiempo real tanto de la cromatina como de la red microtubular. La proteína fluorescente roja mCherry se fusiona con la proteína histona central H2B, creando H2B-mCherry. Esta proteína de fusión se expresa a partir del plásmido pH2B-mCherry-IRES-neo3 y sirve como marcador de cromatina, resaltando el ADN nuclear en las imágenes de células vivas y facilitando los estudios sobre la dinámica de la cromatina y la arquitectura nuclear.

Además, esta línea celular expresa GFP (proteína verde fluorescente) monomérica mejorada fusionada a α -tubulina, introducida mediante el plásmido pmEGFP- α -tubulina-IRES-puro2b. La fusión GFP- α -tubulina proporciona una fluorescencia verde intensa que delinea las estructuras microtubulares dentro de la célula. Esta característica es crucial para estudiar la organización y dinámica de los microtúbulos y su papel en la división celular y el transporte intracelular. La integración estable de estos constructos permite la observación continua y a largo plazo de estos componentes celulares sin necesidad de repetir la transfección, lo que reduce la variabilidad y aumenta la fiabilidad de los resultados experimentales. La selección de la resistencia a fármacos tras la transfección garantiza la estabilidad y uniformidad de expresión entre las células de esta línea.

Organism Humano**Tissue** Cérvix**Disease** Carcinoma**Synonyms** HeLa Kyoto EGFP-a-tubulina/H2B-mCherry, HeLa H2B-mRFP y mEGFP-alfa-tubulina**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-alfa-tubulina/H2B-mCherry | 300670

Citation	HK EGFP-alfa-tubulina/H2B-mCherry (número de catálogo de Cytion 300670)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_L802
Depositor	Laboratorio Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Esta línea HeLa Kyoto contiene construcciones EGFP- α -tubulina y H2B-mCherry para la obtención simultánea de imágenes de microtúbulos y cromatina. Esta clasificación solo es válida en Alemania y puede diferir en otros países.

Datos biomoleculares

Protein expression	EGFP-alfa-tubulina, H2B-mCherry: Localización/Gen: 1..589 / Pcmv, 652..1029 H2B, 1042..1752 / mCherry, 2983..3777 / KanR/NeoR
Viruses	Negativo para VIH, VHB y VHC.
Products	CMV Promotor, Histona H2B, Neomicina, Fosfotransferasa

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
Doubling time	24 horas
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.

Células HK EGFP-alfa-tubulina/H2B-mCherry | 300670

Split ratio Se recomienda una proporción de 1:3

Seeding density 1×10^4 células/cm²

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.

Células HK EGFP-alfa-tubulina/H2B-mCherry | 300670

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

Flask Coating Ninguno

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.