

Células HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919**Información general****Description**

La línea celular HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry es un modelo in vitro derivado de HeLa Kyoto diseñado para la visualización en tiempo real de la dinámica de la cromatina y la arquitectura nuclear en células vivas. Esta línea celular expresa dos fusiones de proteínas fluorescentes: EGFP (proteína fluorescente verde mejorada) fusionada con Lamin B1, y mCherry (una proteína fluorescente roja) fusionada con la histona H2B. La fusión de EGFP con Lamin B1 permite observar la envoltura nuclear y la lámina nuclear, estructuras críticas para mantener la integridad y funcionalidad del núcleo. Las lamininas son proteínas de filamentos intermedios de tipo V que forman un entramado subyacente a la membrana nuclear interna, desempeñando papeles clave en la estabilidad nuclear, la organización de la cromatina y la regulación génica.

Por otro lado, la histona H2B marcada con mCherry permite visualizar la cromatina dentro del núcleo. Las histonas son componentes fundamentales del nucleosoma, implicadas en la organización del ADN en la cromatina, lo que las hace cruciales para la replicación, reparación y transcripción del ADN. La etiqueta mCherry en H2B proporciona una intensa fluorescencia roja que contrasta con la fluorescencia verde de EGFP, lo que permite la obtención simultánea de imágenes duales de la estructura nuclear y la cromatina en experimentos con células vivas. Esta línea celular se utiliza habitualmente en estudios centrados en la mecánica nuclear, la mitosis y la estabilidad del genoma, proporcionando una visión dinámica de procesos celulares que de otro modo serían difíciles de observar en tiempo real.

Organism Humano**Tissue** Cérvix**Disease** Carcinoma**Metastatic site** Localización del tumor primario (cuello uterino)**Applications** Lámina nuclear y organización de la cromatina; dinámica de la lámina B1; obtención de imágenes de la cromatina H2B; fluorescencia de doble color en células vivas; mecánica nuclear; mitosis; estabilidad genómica; biología de la envoltura nuclear**Synonyms** HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 y H2B-mCherry**Características****Age** 30 años**Gender** Mujer**Ethnicity** Afroamericanos**Morphology** Células de aspecto epitelial con forma de piedra en mosaico

Células HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919**Cell type** Células epiteliales**Growth properties** Monocapa, adherente**Datos reglamentarios****Citation** HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry (número de catálogo de Cytion 300919)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR41**Depositor** Laboratorio Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Esta línea HeLa Kyoto contiene construcciones EGFP-Lamin B1 y H2B-mCherry para obtener imágenes de la envoltura nuclear y la organización de la cromatina. Esta clasificación solo es válida en Alemania y puede diferir en otros países.**Datos biomoleculares****Protein expression** EGFP-LaminB1/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 NaHCO₃, 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

Células HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

| | |
|---------------------------|--|
| 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 | 1×10^4 células/cm ² |
| Fluid renewal | de 2 a 3 veces por semana |
| Post-Thaw Recovery | Después de descongelar, siembre las células a 5×10^4 células/cm ² 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. |

Células HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

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 $300 \times g$ 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% CO_2 , 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.

Células HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry | 300919

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.