HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry

300919

GENERAL INFORMATION

Description

A linhagem celular HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry é um modelo in vitro derivado da Hela Kyoto, projetado para a visualização em tempo real da dinâmica da cromatina e da arquitetura nuclear em células vivas. Essa linha celular expressa duas fusões de proteínas fluorescentes: EGFP (proteína fluorescente verde aprimorada) fundida com Lamin B1 e mCherry (uma proteína fluorescente vermelha) fundida com a histona H2B. A fusão da EGFP com a Lamin B1 permite a observação do envelope nuclear e da lâmina nuclear, estruturas essenciais para a manutenção da integridade e funcionalidade do núcleo. As proteínas Lamin são proteínas de filamentos intermediários do tipo V que formam uma malha subjacente à membrana nuclear interna, desempenhando papéis fundamentais na estabilidade nuclear, na organização da cromatina e na regulação gênica.
Por outro lado, a histona H2B marcada com mCherry permite a visualização da cromatina dentro do núcleo. As histonas são componentes fundamentais do nucleossomo, envolvidas na organização do DNA em cromatina, o que as torna cruciais para a replicação, o reparo e a transcrição do DNA. A marcação mCherry na H2B proporciona uma fluorescência vermelha vívida que contrasta com a fluorescência verde da EGFP, permitindo a imagem dupla simultânea da estrutura nuclear e da cromatina em experimentos com células vivas. Essa linhagem celular é comumente utilizada em estudos com foco na mecânica nuclear, mitose e estabilidade genômica, proporcionando uma visão dinâmica de processos celulares que, de outra forma, seriam difíceis de observar em tempo real.

Tissue	Colô, do útero
Disease	Carcinoma
Metastatic site	Localização do tumor primário (colo do útero)

Applications

Lâmina nuclear e organização da cromatina; dinâmica da lamina B1; imagem da cromatina H2B; fluorescência de duas cores em células vivas; mecânica nuclear; mitose; estabilidade genômica; biologia do envelope nuclear

Synonyms

- HeLa Kyoto EGFP-LaminB1 and H2B-mCherry

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

GMO-S1: This HeLa Kyoto line contains EGFP-Lamin B1 and H2B-mCherry constructs for imaging nuclear envelope and chromatin organization. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	Células de tipo epitelial com formato de pedra em mosaico
Cell type	Células epiteliais

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

IDENTIFIERS

Citation

HK EGFP-LaminB1/H2B-mCherry (número de catálogo da Cytion 300919)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_UR41
Depositor	Laboratório Ellenberg (EMBL)

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

EGFP-LaminB1/H2B-mCherry

Products

Histona H2B

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de $NaHCO_3$, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.

Supplements

Adicione 10% de FBS ao meio

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

Seeding density	1 x 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Post-thaw recovery	Após o descongelamento, semeie as células a uma densidade de 5 x 10^4 células/cm^2 e deixe que elas se recuperem do processo de congelamento e se adiram por pelo menos 24 horas.

Thawing and culturing

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.
Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Storage conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Shipping conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

DONOR

Donor age	30 anos
Ethnicity	afro-americano

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Ao planejar o armazenamento de um criotubo em nitrogênio líquido para descongelamento futuro, é obrigatório seguir medidas de segurança rigorosas. É essencial o uso de luvas e roupas de proteção adequadas, além do uso obrigatório de máscara facial ou óculos de proteção durante a transferência de amostras congeladas para dentro ou para fora do tanque de nitrogênio líquido. Isso visa mitigar o risco de ferimentos decorrentes de possíveis explosões dos criotubos durante a remoção, o que pode resultar na projeção de fragmentos pontiagudos.

Warranty

Na Cytion, garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células permanecerão viáveis no início da cultura por
60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no
Certificado de Análise e/ou na Ficha Técnica do Produto.
Para obter todos os detalhes, consulte nossa
Declaração de Garantia.

Third-party agreements apply	Yes