HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry

300921

GENERAL INFORMATION

Description

A linhagem celular HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry é um modelo celular derivado da Hela Kyoto, geneticamente modificado, desenvolvido para facilitar estudos avançados sobre a dinâmica nuclear e a organização da cromatina em células vivas. Essa linha celular expressa duas proteínas de fusão: a EGFP (proteína fluorescente verde aprimorada) fundida com a Lamin A e a mCherry (uma proteína fluorescente vermelha) fundida com a histona H2B. A fusão EGFP-Lamin A destaca o envelope nuclear e permite a visualização de alterações na arquitetura nuclear durante a progressão do ciclo celular ou sob diversas condições experimentais. Por sua vez, a proteína de fusão H2B-mCherry se liga ao DNA e produz uma fluorescência vermelha intensa que marca a cromatina, possibilitando a observação em tempo real dos processos cromossômicos durante a mitose e a interfase.
Essas células são inestimáveis para aplicações de imagem em tempo real, incluindo estudos sobre integridade nuclear, replicação do DNA e envelhecimento celular, bem como pesquisas sobre doenças nas quais a arquitetura nuclear é alterada, como câncer e laminopatias. A característica de fluorescência bicolor dessa linhagem celular permite a visualização simultânea tanto do envelope nuclear quanto da cromatina, facilitando uma compreensão abrangente das interações nuclear-citoplasmáticas e da organização espaço-temporal da cromatina. Essas capacidades a tornam uma ferramenta essencial para a pesquisa em biologia molecular e biofísica celular, proporcionando insights sobre os mecanismos de regulação da expressão gênica, a organização nuclear e o ciclo celular.

Tissue	Colô, do útero
Disease	Carcinoma

Synonyms

- HeLa Kyoto EGFP-LaminA 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 A and H2B-mCherry constructs enabling dual-color imaging of nuclear lamina and chromatin. 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

IDENTIFIERS

Citation

HK EGFP-LaminA/H2B-mCherry (número de catálogo da Cytion 300921)

NCBI TaxID	9606

Cellosaurus	CVCL_1D62
Depositor	Laboratório Ellenberg (EMBL)

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

EGFP-LaminA/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