

Células HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Información general

Description

La línea celular HK Mad2-LAP/H2B-mCherry es un modelo celular de ingeniería genética ampliamente utilizado para estudiar la segregación cromosómica y el punto de control del ensamblaje del huso durante la mitosis. Estas células derivan de las células HeLa Kyoto, una robusta línea celular humana tomada originalmente de un carcinoma cervical. El aspecto HK Mad2-LAP (LAP-tagged Mad2) de la línea celular facilita la visualización y el análisis funcional de la proteína Mad2, un componente crítico del punto de control de ensamblaje del huso que impide el inicio de la anafase hasta que todos los cromosomas están correctamente alineados en la placa metafásica.

La incorporación de H2B-mCherry, donde la histona H2B está marcada con la proteína fluorescente mCherry, permite obtener imágenes en tiempo real de la dinámica de la cromatina durante la división celular. Esta característica convierte a la línea celular HK Mad2-LAP/H2B-mCherry en una herramienta excelente para las técnicas de obtención de imágenes de alta resolución de células vivas con el fin de observar los movimientos cromosómicos y la progresión mitótica en células humanas en diversas condiciones experimentales. El uso de etiquetas fluorescentes ayuda a realizar un seguimiento y una cuantificación precisos, proporcionando así información valiosa sobre los mecanismos moleculares que rigen la regulación del ciclo celular y la estabilidad cromosómica.

Organism Humano

Tissue Cérvix

Disease Carcinoma

Synonyms HeLa Kyoto Mad2-LAP y H2B-mCherry, HeLa Kyoto Mad2-LAP

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 Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Citation HK Mad2-LAP/H2B-mCherry (número de catálogo de Cytion 300920)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1D65

Depositor Laboratorio Ellenberg (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Esta línea HeLa Kyoto contiene construcciones Mad2-LAP y H2B-mCherry que permiten visualizar la dinámica del punto de control del huso. Esta clasificación solo es válida en Alemania y puede diferir en otros países.

Datos biomoleculares

Protein expression Mad2-LAP/H2B-mCherry

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

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/cm²

Fluid renewal de 2 a 3 veces por semana

Células HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

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 Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

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.