

Cellules HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Informations générales

Description

La lignée cellulaire HK Mad2-LAP/H2B-mCherry est un modèle cellulaire génétiquement modifié largement utilisé pour étudier la ségrégation des chromosomes et le point de contrôle de l'assemblage du fuseau pendant la mitose. Ces cellules sont dérivées des cellules HeLa Kyoto, une lignée cellulaire humaine robuste provenant à l'origine d'un carcinome cervical. L'aspect HK Mad2-LAP (LAP-tagged Mad2) de la lignée cellulaire facilite la visualisation et l'analyse fonctionnelle de la protéine Mad2, un composant critique du point de contrôle de l'assemblage du fuseau qui empêche le début de l'anaphase jusqu'à ce que tous les chromosomes soient correctement alignés à la plaque métaphasique.

L'incorporation de H2B-mCherry, où l'histone H2B est marquée avec la protéine fluorescente mCherry, permet l'imagerie en temps réel de la dynamique de la chromatine pendant la division cellulaire. Cette caractéristique fait de la lignée cellulaire HK Mad2-LAP/H2B-mCherry un excellent outil pour les techniques d'imagerie à haute résolution des cellules vivantes afin d'observer les mouvements chromosomiques et la progression mitotique dans les cellules humaines dans diverses conditions expérimentales. L'utilisation de marqueurs fluorescents permet un suivi et une quantification précis, ce qui fournit des informations précieuses sur les mécanismes moléculaires qui régissent la régulation du cycle cellulaire et la stabilité chromosomique.

Organism Humain

Tissue Col de l'utérus

Disease Carcinome

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

Caractéristiques

Age 30 ans

Gender Femme

Ethnicity Afro-américain

Morphology Cellules de type épithélial avec une forme de pierre en mosaïque

Growth properties Monocouche, adhérente

Données réglementaires

Citation HK Mad2-LAP/H2B-mCherry (numéro de catalogue Cytion 300920)

Cellules HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D65**Depositor** Le laboratoire Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1 : cette lignée HeLa Kyoto contient des constructions Mad2-LAP et H2B-mCherry permettant la visualisation de la dynamique du point de contrôle du fuseau. Cette classification s'applique uniquement en Allemagne et peut différer ailleurs.**Données biomoléculaires****Protein expression** Mad2-LAP/H2B-mCherry**Manipulation****Culture Medium** DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO₃, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.**Split ratio** Un rapport de 1:3 est recommandé**Seeding density** 1×10^4 cellules/cm²**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine

Cellules HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Post-Thaw Recovery

Après décongélation, ensemercer les cellules à raison de 5×10^4 cellules/cm² et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Cellules HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.