

Cellule HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Informazioni generali

Description

La linea cellulare HK Mad2-LAP/H2B-mCherry è un modello cellulare geneticamente modificato ampiamente utilizzato per studiare la segregazione cromosomica e il checkpoint di assemblaggio del fuso durante la mitosi. Queste cellule derivano dalle cellule HeLa Kyoto, una robusta linea cellulare umana originariamente ricavata da un carcinoma cervicale. L'aspetto HK Mad2-LAP (Mad2 marcata con LAP) della linea cellulare facilita la visualizzazione e l'analisi funzionale della proteina Mad2, un componente critico del checkpoint di assemblaggio del fuso che impedisce l'inizio dell'anafase fino a quando tutti i cromosomi non sono correttamente allineati alla piastra di metafase.

L'incorporazione di H2B-mCherry, in cui l'istone H2B è marcato con la proteina fluorescente mCherry, consente l'imaging in tempo reale delle dinamiche della cromatina durante la divisione cellulare. Questa caratteristica rende la linea cellulare HK Mad2-LAP/H2B-mCherry uno strumento eccellente per le tecniche di imaging in vivo ad alta risoluzione per osservare i movimenti cromosomici e la progressione mitotica nelle cellule umane in varie condizioni sperimentali. L'uso di tag fluorescenti aiuta a tracciare e quantificare con precisione, fornendo così preziose informazioni sui meccanismi molecolari che regolano la regolazione del ciclo cellulare e la stabilità cromosomica.

Organism Umano

Tissue Cervice

Disease Carcinoma

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

Caratteristiche

Age 30 anni

Gender Donna

Ethnicity Afroamericano

Morphology Cellule simili a quelle epiteliali con forma di pietra a mosaico

Growth properties Monostrato, aderente

Dati normativi

Citation HK Mad2-LAP/H2B-mCherry (numero di catalogo Cytion 300920)

Cellule HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D65**Depositor** Il laboratorio Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: questa linea HeLa Kyoto contiene costrutti Mad2-LAP e H2B-mCherry che consentono la visualizzazione delle dinamiche del checkpoint del fuso. Questa classificazione è valida solo in Germania e potrebbe differire in altri paesi.**Dati biomolecolari****Protein expression** Mad2-LAP/H2B-mCherry**Manipolazione****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Split ratio** Si raccomanda un rapporto di 1:3**Seeding density** 1×10^4 cellule/cm²**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana**Post-Thaw Recovery** Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5×10^4 cellule/cm² e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.

Cellule HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.