

Células HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Informações gerais

Description

A linha celular HK Mad2-LAP/H2B-mCherry é um modelo celular geneticamente modificado, amplamente utilizado para estudar a segregação cromossômica e o ponto de controlo da montagem do fuso durante a mitose. Estas células são derivadas de células HeLa Kyoto, uma linha celular humana robusta originalmente retirada de um carcinoma cervical. O aspeto HK Mad2-LAP (Mad2 marcado com LAP) da linha celular facilita a visualização e a análise funcional da proteína Mad2, um componente crítico do ponto de controlo da montagem do fuso que impede o início da anáfase até que todos os cromossomas estejam corretamente alinhados na placa metafásica.

A incorporação de H2B-mCherry, em que a histona H2B é marcada com a proteína fluorescente mCherry, permite a obtenção de imagens em tempo real da dinâmica da cromatina durante a divisão celular. Esta característica faz da linha celular HK Mad2-LAP/H2B-mCherry uma excelente ferramenta para técnicas de imagiologia de células vivas de alta resolução para observar os movimentos cromossômicos e a progressão mitótica em células humanas sob várias condições experimentais. A utilização de marcadores fluorescentes ajuda a um rastreio e quantificação precisos, fornecendo assim informações valiosas sobre os mecanismos moleculares que regem a regulação do ciclo celular e a estabilidade cromossômica.

Organism Humano

Tissue Colo do útero

Disease Carcinoma

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

Caraterísticas

Age 30 anos

Gender Feminino

Ethnicity Afro-americano

Morphology Células de tipo epitelial com forma de pedra em mosaico

Growth properties Monocamada, aderente

Dados regulamentares

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

Células HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D65**Depositor** O Laboratório Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Esta linha HeLa Kyoto contém construções Mad2-LAP e H2B-mCherry que permitem a visualização da dinâmica do ponto de verificação do fuso. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode ser diferente noutros países.**Dados biomoleculares****Protein expression** Mad2-LAP/H2B-mCherry**Manuseamento****Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density** 1×10^4 células/cm²**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Post-Thaw Recovery** Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

Células HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Células HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.