

## Celule HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

## Informații generale

## Description

Linia celulară HK Mad2-LAP/H2B-mCherry este un model celular modificat genetic utilizat pe scară largă pentru a studia segregarea cromozomilor și punctul de control al asamblării fusului în timpul mitozei. Aceste celule sunt derivate din celulele HeLa Kyoto, o linie celulară umană robustă obținută inițial dintr-un carcinom cervical. Aspectul HK Mad2-LAP (LAP-tagged Mad2) al liniei celulare facilitează vizualizarea și analiza funcțională a proteinei Mad2, o componentă critică a punctului de control al asamblării fusului care împiedică debutul anafazei până când toți cromozomii sunt aliniați corect la placa metafazică.

Încorporarea H2B-mCherry, în care histona H2B este marcată cu proteina fluorescentă mCherry, permite imagistica în timp real a dinamicii cromatinei în timpul diviziunii celulare. Această caracteristică face din linia celulară HK Mad2-LAP/H2B-mCherry un instrument excelent pentru tehnicile de imagistică cu celule vii de înaltă rezoluție pentru a observa mișcările cromozomiale și progresia mitotică în celulele umane în diferite condiții experimentale. Utilizarea etichetelor fluorescente ajută la urmărirea și cuantificarea precisă, oferind astfel informații valoroase despre mecanismele moleculare care guvernează reglarea ciclului celular și stabilitatea cromozomială.

**Organism** Om

**Tissue** Cervix

**Disease** Carcinom

**Synonyms** HeLa Kyoto Mad2-LAP și H2B-mCherry, HeLa Kyoto Mad2-LAP

## Caracteristici

**Age** 30 de ani

**Gender** Femei

**Ethnicity** African american

**Morphology** Celule de tip epitelial cu formă de piatră mozaică

**Growth properties** Monostrat, aderent

## Date de reglementare

**Citation** HK Mad2-LAP/H2B-mCherry (număr de catalog Cytion 300920)

## Celule HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1D65**Depositor** Laboratorul Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Această linie HeLa Kyoto conține constructe Mad2-LAP și H2B-mCherry care permit vizualizarea dinamicii punctului de control al fusului. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.

## Date biomoleculare

**Protein expression** Mad2-LAP/H2B-mCherry

## Manipulare

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  celule/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** de 2 până la 3 ori pe săptămână**Post-Thaw Recovery** După decongelare, plasați celulele la  $5 \times 10^4$  celule/cm<sup>2</sup> și lăsați-le să se recupereze după procesul de congelare și să adere timp de cel puțin 24 de ore.

## Celule HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

**Freeze medium**

Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

**Incubation Atmosphere**

37°C, 5%<sub>CO2</sub>, atmosferă umidificată.

**Flask Coating**

Niciuna

**Freezing Procedure**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

## Celule HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

### Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

### Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

## Controlul calității / Profil genetic / HLA

### Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.