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.

Tissu	Col de l'utérus
Maladie	Carcinome

Synonymes

- HeLa Kyoto Mad2-LAP and H2B-mCherry
- HeLa Kyoto Mad2-LAP

CLASSIFICATION

Organisme	Humain
Sexe	Femme
Propriétés de croissance	Adepte
Statut OGM	GMO-S1

Informations détaillées sur le statut OGM

GMO-S1: This HeLa Kyoto line contains Mad2-LAP and H2B-mCherry constructs enabling visualization of spindle checkpoint dynamics. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Niveau de biosécurité	1

CARACTÉRISTIQUES

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

IDENTIFIANTS

Référence

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

Numéro d'identification fiscale NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_1D65

Déposant	Le laboratoire Ellenberg (EMBL)

EXPRESSION ET SENSIBILITÉ

Expression des protéines

Mad2-LAP/H2B-mCherry

MANIPULATION ET CULTURE

Milieu de culture

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)

Atmosphère d'incubation	37°C, 5%CO2, atmosphère humidifiée.

Compléments alimentaires

Compléter le milieu avec 10% de FBS

Réactif de dissociation	Accutase

Repiquage

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.

Densité de semis	1 x 10^4 cellules/cm^2
Renouvellement des fluides	2 à 3 fois par semaine
Récupération après le dégel	Après décongélation, ensemencer les cellules à raison de 5 x 10^4 cellules/cm^2 et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.

Décongélation et mise en culture

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

CONTRÔLE QUALITÉ ET CRYOCONSERVATION

Stérilité

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.

Milieu de congélation	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 cryogénisation.

Conditions de stockage

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.

Conditions de livraison

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.

DONATEUR

Âge du donneur	30 ans
Origine ethnique	Afro-américain

ASPECTS JURIDIQUES ET SÉCURITÉ

Consignes de sécurité

Lorsque l'on envisage de stocker un cryovial dans l'azote liquide en vue d'une décongélation ultérieure, il est obligatoire de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Des gants et des vêtements de protection appropriés sont indispensables, et l'utilisation d'un masque facial ou de lunettes de sécurité est requise pendant le transfert des échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d'azote liquide. Ceci afin de réduire le risque de blessures dues à l'explosion potentielle des cryoviaux lors de leur retrait, qui peut entraîner la projection de fragments tranchants.

Garantie

Chez Cytion, nous nous portons garants de la qualité et de la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant 60 jours après l'expédition de nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le certificat d'analyse et/ou la fiche produit
Pour plus de détails, veuillez consulter notre <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default""> Déclaration de garantie

Les accords conclus avec des tiers s'appliquent	Yes