HK Mad2-LAP/H2B-mCherry

300920

INFORMAZIONI GENERALI

Descrizione

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.

Tessuto	Cervice
Malattia	Carcinoma

Sinonimi

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

CLASSIFICAZIONE

Organismo	Umano
Sesso	Donna
Proprietà di crescita	Aderente
Presenza di OGM	GMO-S1

Dettagli sullo stato degli 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.

Livello di biosicurezza	1

CARATTERISTICHE

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

IDENTIFICATORI

Riferimento bibliografico

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

Codice fiscale NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_1D65
Depositario	Il laboratorio Ellenberg (EMBL)

ESPRESSIONE E SUSCETTIBILITÀ

Espressione proteica

Mad2-LAP/H2B-mCherry

MANIPOLAZIONE E COLTURA

Terreno di coltura

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)

Atmosfera di incubazione	37°C, 5%CO2, atmosfera umidificata.

Integratori

Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

Reagente di dissociazione	Accutase

Subcoltura

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.

Densità di semina	1 x 10^4 cellule/cm^2
Rinnovo dei fluidi	da 2 a 3 volte alla settimana
Recupero post-scongelamento	Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5 x 10^4 cellule/cm^2 e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.

Scongelamento e coltura

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.

CONTROLLO DI QUALITÀ E CRIOCONSERVAZIONE

Sterilità

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.

Terreno di coltura congelato	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, 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.

Condizioni di conservazione

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.

Condizioni di spedizione

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.

DONATORE

Età dei donatori	30 anni
Etnia	Afroamericano

ASPETTI LEGALI E DI SICUREZZA

Misure di sicurezza

Quando si prevede di conservare una crioviale in azoto liquido per un futuro scongelamento, è obbligatorio attenersi a rigorose misure di sicurezza. Guanti e indumenti protettivi appropriati sono essenziali e l'uso di una maschera facciale o di occhiali di sicurezza è richiesto durante il trasferimento dei campioni congelati da o verso il serbatoio di azoto liquido. Questo per ridurre il rischio di lesioni dovute a potenziali esplosioni di crioviali al momento della rimozione, che possono provocare la proiezione di frammenti taglienti.

Garanzia

Noi di Cytion garantiamo la qualità e la vitalità dei nostri prodotti.
Garantiamo che le nostre cellule saranno vitali all'inizio della coltura per 60 giorni dopo la spedizione dai nostri stabilimenti.
Assicuriamo che tutti i materiali sono conformi alle specifiche descritte nel Certificato di Analisi e/o nella Scheda Prodotto
Per tutti i dettagli, consultare la nostra <a href=""/Chi-siamo/Garanzia/"" hreflang=""x-default"">Dichiarazione di Garanzia

Si applicano gli accordi con terze parti	Yes