HK Mad2-LAP/H2B-mCherry

300920

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

A linha celular HK Mad2-LAP/H2B-mCherry é um modelo celular geneticamente modificado, amplamente utilizado para estudar a segregação cromossómica 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 caraterística 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 cromossómicos 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 cromossómica.

Tecido	Colo do útero
Doença	Carcinoma

Sinónimos

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

CLASSIFICAÇÃO

Organismo	Humano
Sexo	Feminino
Propriedades de crescimento	Aderente
Estatuto em matéria de OGM	GMO-S1

Detalhes sobre o estatuto dos 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.

Nível de biossegurança	1

CARACTERÍSTICAS

Morfologia	Células de tipo epitelial com forma de pedra em mosaico

IDENTIFICADORES

Referência

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

Número de identificação fiscal do NCBI	9606

Cellosaurus	CVCL_1D65
Depositante	O Laboratório Ellenberg (EMBL)

EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

Expressão proteica

Mad2-LAP/H2B-mCherry

MANUSEAMENTO E CULTURA

Meio de cultura

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)

Atmosfera de incubação	37°C, 5%CO2, atmosfera humidificada.

Suplementos

Completar o meio com 10% de FBS

Reagente de dissociação	Accutase

Subcultura

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.

Densidade de sementeira	1 x 10^4 células/cm^2
Renovação de fluidos	2 a 3 vezes por semana
Recuperação após o descongelamento	Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5 x 10^4 células/cm^2 e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

Descongelamento e cultura

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.

CONTROLO DE QUALIDADE E CRIOPRESERVAÇÃO

Esterilidade

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 inspecções visuais diárias.

Meio de congelação	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 optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Condições de armazenamento

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.

Condições de envio

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.

DOADOR

Idade do dador	30 anos
Etnia	Afro-americano

ASPECTOS LEGAIS E DE SEGURANÇA

Precauções de segurança

Quando se planeia armazenar um criovial em nitrogénio líquido para descongelação futura, é obrigatório aderir a medidas de segurança rigorosas. Luvas e vestuário de proteção adequados são essenciais, e a utilização de uma máscara facial ou óculos de segurança é necessária durante a transferência de amostras congeladas para ou do tanque de nitrogénio líquido. Isto destina-se a mitigar o risco de ferimentos provocados por potenciais explosões de crioviais após a remoção, que podem resultar na projeção de fragmentos afiados.

Garantia

Na Cytion, nós garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células serão viáveis no início da cultura por 60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no Certificado de Análise e/ou Folha de Produto
Para mais informações, consulte a nossa <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Declaração de Garantia

Aplicam-se os acordos com terceiros	Yes