HK Mad2-LAP/H2B-mCherry

300920

GENERAL INFORMATION

Description

A linhagem celular HK Mad2-LAP/H2B-mCherry é um modelo celular geneticamente modificado amplamente utilizado para o estudo da segregação cromossômica e do ponto de verificação da montagem do fuso durante a mitose. Essas células são derivadas das células HeLa Kyoto, uma linhagem celular humana robusta originalmente obtida a partir de um carcinoma cervical. A característica HK Mad2-LAP (Mad2 marcada com LAP) da linha celular facilita a visualização e a análise funcional da proteína Mad2, um componente essencial do ponto de verificação da montagem do fuso que impede o início da anáfase até que todos os cromossomos estejam devidamente alinhados na placa metafásica.
A incorporação de H2B-mCherry, em que a histona H2B é marcada com a proteína fluorescente mCherry, permite a imagem em tempo real da dinâmica da cromatina durante a divisão celular. Esse recurso torna a linhagem celular HK Mad2-LAP/H2B-mCherry uma excelente ferramenta para técnicas de imagem de células vivas em alta resolução, a fim de observar os movimentos cromossômicos e a progressão mitótica em células humanas sob diversas condições experimentais. O uso de marcadores fluorescentes auxilia no rastreamento e na quantificação precisos, proporcionando, assim, insights valiosos sobre os mecanismos moleculares que regem a regulação do ciclo celular e a estabilidade cromossômica.

Tissue	Colô, do útero
Disease	Carcinoma

Synonyms

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

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

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.

Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	Células de tipo epitelial com formato de pedra em mosaico

IDENTIFIERS

Citation

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

NCBI TaxID	9606

Cellosaurus	CVCL_1D65
Depositor	Laboratório Ellenberg (EMBL)

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

Mad2-LAP/H2B-mCherry

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de $NaHCO_3$, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.

Supplements

Adicione 10% de FBS ao meio

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

Seeding density	1 x 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Post-thaw recovery	Após o descongelamento, semeie as células a uma densidade de 5 x 10^4 células/cm^2 e deixe que elas se recuperem do processo de congelamento e se adiram por pelo menos 24 horas.

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.
Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Storage conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Shipping conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

DONOR

Donor age	30 anos
Ethnicity	afro-americano

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Ao planejar o armazenamento de um criotubo em nitrogênio líquido para descongelamento futuro, é obrigatório seguir medidas de segurança rigorosas. É essencial o uso de luvas e roupas de proteção adequadas, além do uso obrigatório de máscara facial ou óculos de proteção durante a transferência de amostras congeladas para dentro ou para fora do tanque de nitrogênio líquido. Isso visa mitigar o risco de ferimentos decorrentes de possíveis explosões dos criotubos durante a remoção, o que pode resultar na projeção de fragmentos pontiagudos.

Warranty

Na Cytion, garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células permanecerão 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 na Ficha Técnica do Produto.
Para obter todos os detalhes, consulte nossa
Declaração de Garantia.

Third-party agreements apply	Yes