Product sheet

Клетки HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Обща информация

Description	Клетъчната линия HK Mad2-LAP/H2B-mCherry е генетично модифициран клетъчен модел, широко използван за изучаване на хромозомната сегрегация и контролната точка на сглобяване на вретеното по време на митоза. Тези клетки произлизат от HeLa Киото клетки, стабилна човешка клетъчна линия, първоначално взета от карцином на маточната шийка. Аспектът на клетъчната линия HK Mad2-LAP (маркиран с LAP Mad2) улеснява визуализацията и функционалния анализ на протеина Mad2, критичен компонент на контролната точка на сглобяване на вретеното, който предотвратява началото на анафазата, докато всички хромозоми не се подредят правилно на метафазната плочка. Инкорпорирането на H2B-mCherry, при което хистон H2B е маркиран с флуоресцентен протеин mCherry, позволява визуализиране на динамиката на хроматина в реално време по време на клетъчното делене. Тази характеристика прави клетъчната линия HK Mad2-LAP/H2B-mCherry отличен инструмент за техники за изобразяване на живи клетки с висока разделителна способност за наблюдение на хромозомни движения и митотична прогресия в човешки клетки при различни експериментални условия. Използването на флуоресцентни маркери спомага за прецизно проследяване и количествено определяне, като по този начин осигурява ценни познания за молекулярните механизми, управляващи регулацията на клетъчния цикъл и хромозомната стабилност.
Organism	Човек
Tissue	Цервикс
Disease	Карцином
Synonyms	HeLa Kyoto Mad2-LAP и H2B-mCherry, HeLa Kyoto Mad2-LAP

Характеристики

Age	30 години
Gender	Жена
Ethnicity	Афроамериканец
Morphology	Епителиални клетки с форма на мозаечно камъче
Growth properties	Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Клетки HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Citation	HK Mad2-LAP/H2B-mCherry (каталожен номер 300920 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D65
Depositor	Лабораторията на Елънбърг (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Тази линия HeLa Kyoto съдържа Mad2-LAP и H2B-mCherry конструкции, които позволяват визуализация на динамиката на контролната точка на вретеното. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Protein expression	Mad2-LAP/H2B-mCherry

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	1×10^{4} клетки/cm^2
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично

Клетки HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Post-Thaw Recovery	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5 x 10^4 клетки/cm^2 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Клетки HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Flask Coating	За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.
Freezing Procedure	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.