

## HK Mad2-LAP/H2B-mCherry-celler | 300920

## Generel information

## Description

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry-cellelinjen er en genetisk konstrueret cellemodel, der i vid udstrækning bruges til at studere kromosomadskillelse og spindelsamlingens kontrolpunkt under mitose. Disse celler stammer fra HeLa Kyoto-celler, en robust menneskelig cellelinje, der oprindeligt er taget fra et livmoderhalskræftkarcinom. HK Mad2-LAP (LAP-tagged Mad2) aspektet af cellelinjen letter visualiseringen og den funktionelle analyse af Mad2-proteinet, en kritisk komponent i spindelsamlingens kontrolpunkt, der forhindrer anafasens begyndelse, indtil alle kromosomer er korrekt justeret på metafasepladen.

Inkorporering af H2B-mCherry, hvor histon H2B er mærket med det fluorescerende protein mCherry, giver mulighed for realtidsbilleder af kromatindynamik under celledeling. Denne funktion gør HK Mad2-LAP/H2B-mCherry-cellelinjen til et fremragende værktøj til live-celle-billeddannelsesteknikker med høj opløsning til at observere kromosombevægelser og mitotisk progression i humane celler under forskellige eksperimentelle forhold. Brugen af fluorescerende tags hjælper med præcis sporing og kvantificering og giver dermed værdifuld indsigt i de molekylære mekanismer, der styrer celleyklusregulering og kromosomstabilitet.

**Organism** Menneske

**Tissue** Livmoderhalsen

**Disease** Karcinom

**Synonyms** HeLa Kyoto Mad2-LAP og H2B-mCherry, HeLa Kyoto Mad2-LAP

## Karakteristika

**Age** 30 år

**Gender** Kvinde

**Ethnicity** Afroamerikaner

**Morphology** Epitel-lignende celler med mosaikstenform

**Growth properties** Monolag, klæbende

## Regulatoriske data

**Citation** HK Mad2-LAP/H2B-mCherry (Cytion katalognummer 300920)

**Biosafety level** 1

## HK Mad2-LAP/H2B-mCherry-celler | 300920

**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1D65**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linje indeholder Mad2-LAP- og H2B-mCherry-konstruktioner, der muliggør visualisering af spindelcheckpoint-dynamikken. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.**Biomolekylære data****Protein expression** Mad2-LAP/H2B-mCherry**Håndtering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Post-Thaw Recovery** Efter optøning skal cellerne udplades med  $5 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup>, og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysingsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.

**HK Mad2-LAP/H2B-mCherry-celler | 300920****Freeze medium**

Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

**Incubation Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befugtet atmosfære.

**Flask Coating**

Ingen

**Freezing Procedure**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

## HK Mad2-LAP/H2B-mCherry-celler | 300920

### Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

### Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

## Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.