

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry-Zellen | 300920

Allgemeine Informationen

Description

Die HK Mad2-LAP/H2B-mCherry-Zelllinie ist ein gentechnisch hergestelltes Zellmodell, das in großem Umfang zur Untersuchung der Chromosomentrennung und des Kontrollpunkts der Spindelversammlung während der Mitose eingesetzt wird. Diese Zellen stammen von HeLa-Zellen ab, einer robusten menschlichen Zelllinie, die ursprünglich aus einem Gebärmutterhalskarzinom gewonnen wurde. Der HK Mad2-LAP-Aspekt (LAP-tagged Mad2) der Zelllinie erleichtert die Visualisierung und Funktionsanalyse des Mad2-Proteins, einer kritischen Komponente des Spindelassamblierungs-Kontrollpunkts, der den Beginn der Anaphase verhindert, bis alle Chromosomen an der Metaphasenplatte richtig ausgerichtet sind.

Der Einbau von H2B-mCherry, bei dem das Histon H2B mit dem fluoreszierenden Protein mCherry markiert ist, ermöglicht die Echtzeitdarstellung der Chromatindynamik während der Zellteilung. Diese Eigenschaft macht die HK Mad2-LAP/H2B-mCherry-Zelllinie zu einem hervorragenden Werkzeug für hochauflösende Live-Cell-Imaging-Techniken zur Beobachtung der Chromosomenbewegungen und des mitotischen Fortschritts in menschlichen Zellen unter verschiedenen Versuchsbedingungen. Die Verwendung von Fluoreszenzmarkern ermöglicht eine präzise Verfolgung und Quantifizierung und bietet so wertvolle Einblicke in die molekularen Mechanismen der Zellzyklusregulierung und der Chromosomenstabilität.

Organism Menschen

Tissue Gebärmutterhals

Disease Karzinom

Synonyms HeLa Kyoto Mad2-LAP und H2B-mCherry, HeLa Kyoto Mad2-LAP

Merkmale

Age 30 Jahre

Gender Weiblich

Ethnicity Afroamerikaner

Morphology Epithelähnliche Zellen mit mosaikartiger Steinform

Growth properties Monolayer, anhaftend

Identifikatoren / Biologische Schutzstufe / Zitation

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

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry-Zellen | 300920

Biosafety level 1

Depositor Dr. J. Ellenberg, EMBL Heidelberg

Expression / Mutation

Protein expression Mad2-LAP/H2B-mCherry

Handhabung

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 1,5 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)

Medium supplements Supplemente des Mediums mit 10% FBS

Passaging solution Accutase

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Split ratio Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3

Seeding density 1×10^4 Zellen/cm²

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

Freezing recovery Nach dem Auftauen die Zellen mit 5×10^4 Zellen/cm² plattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und anhaften lassen.

Freeze medium CM-1 (Cytion Katalognummer 800100) oder CM-ACF (Cytion Katalognummer 806100)

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry-Zellen | 300920

Handling of cryopreserved cultures

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle nachfolgenden Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig. Sie können die Zentrifugation auch überspringen, aber das restliche Gefriermedium nach 24 Stunden entfernen.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.