

## 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 Spindelmontage während der Mitose eingesetzt wird. Diese Zellen stammen von HeLa-Kyoto-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 Spindelasssemblierungs-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, haftend

## Regulatorische Daten

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

**HK Mad2-LAP/H2B-mCherry-Zellen | 300920****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1D65**Depositor** Das Ellenberg-Labor (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Diese HeLa-Kyoto-Linie enthält Mad2-LAP- und H2B-mCherry-Konstrukte, die eine Visualisierung der Spindel-Checkpoint-Dynamik ermöglichen. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.**Biomolekulare Daten****Protein expression** Mad2-LAP/H2B-mCherry**Handhabung****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS**Dissociation Reagent** 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**  $1 \times 10^4$  Zellen/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 bis 3 Mal pro Woche

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

### Post-Thaw Recovery

Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von  $5 \times 10^4$  Zellen/cm<sup>2</sup> ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhären lassen.

### Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

### Thawing and Culturing Cells

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 °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 weiteren 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 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären 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.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%<sub>CO2</sub>, befeuchtete Atmosphäre.

### Flask Coating

Keine

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

### Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

### Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

### Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

## 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.