

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

### Γενικές πληροφορίες

#### Description

Η κυτταρική σειρά HK Mad2-LAP/H2B-mCherry είναι ένα γενετικά τροποποιημένο κυτταρικό μοντέλο που χρησιμοποιείται ευρέως για τη μελέτη του διαχωρισμού των χρωμοσωμάτων και του σημείου ελέγχου συναρμολόγησης της ατράκτου κατά τη μίτωση. Τα κύτταρα αυτά προέρχονται από τα κύτταρα HeLa Kyoto, μια ισχυρή ανθρώπινη κυτταρική σειρά που προέρχεται αρχικά από καρκίνωμα του τραχήλου της μήτρας. Η πτυχή HK Mad2-LAP (LAP-tagged Mad2) της κυτταρικής σειράς διευκολύνει την οπτικοποίηση και τη λειτουργική ανάλυση της πρωτεΐνης Mad2, ενός κρίσιμου συστατικού του σημείου ελέγχου συναρμολόγησης της ατράκτου που εμποδίζει την έναρξη της ανάφασης έως ότου όλα τα χρωμοσώματα ευθυγραμμιστούν σωστά στην πλάκα μετάφασης.

Η ενσωμάτωση της H2B-mCherry, όπου η ιστόνη H2B επισημαίνεται με τη φθορίζουσα πρωτεΐνη mCherry, επιτρέπει την απεικόνιση σε πραγματικό χρόνο της δυναμικής της χρωματίνης κατά τη διάρκεια της κυτταρικής διαίρεσης. Αυτό το χαρακτηριστικό καθιστά την κυτταρική σειρά HK Mad2-LAP/H2B-mCherry ένα εξαιρετικό εργαλείο για τεχνικές απεικόνισης ζωντανών κυττάρων υψηλής ανάλυσης για την παρατήρηση των χρωμοσωμικών κινήσεων και της μιτωτικής εξέλιξης σε ανθρώπινα κύτταρα υπό διάφορες πειραματικές συνθήκες. Η χρήση φθορίζουσων ετικετών βοηθά στην ακριβή παρακολούθηση και ποσοτικοποίηση, παρέχοντας έτσι πολύτιμες πληροφορίες για τους μοριακούς μηχανισμούς που διέπουν τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και τη χρωμοσωμική σταθερότητα.

#### Organism

Ανθρώπινο

#### Tissue

Τράχηλος μήτρας

#### Disease

Καρκίνωμα

#### Synonyms

HeLa Kyoto Mad2-LAP και H2B-mCherry, HeLa Kyoto Mad2-LAP

### Χαρακτηριστικά

#### Age

30 χρόνια

#### Gender

Γυναίκα

#### Ethnicity

Αφροαμερικανός

#### Morphology

Επιθηλιακά κύτταρα με ψηφιδωτό σχήμα πέτρας

#### Growth properties

Μονοστρωματική, προσκολλημένη

### Ρυθμιστικά δεδομένα

**Κύτταρα HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920**

<b>Citation</b>	HK Mad2-LAP/H2B-mCherry (αριθμός καταλόγου Cytion 300920)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1D65
<b>Depositor</b>	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Αυτή η σειρά HeLa Kyoto περιέχει κατασκευάσματα Mad2-LAP και H2B-mCherry που επιτρέπουν την οπτικοποίηση της δυναμικής του σημείου ελέγχου του άξονα. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

**Βιομοριακά δεδομένα**

<b>Protein expression</b>	Mad2-LAP/H2B-mCherry
---------------------------	----------------------

**Χειρισμός**

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM πυρροβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
<b>Seeding density</b>	1 x 10 <sup>4</sup> κύτταρα/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 έως 3 φορές την εβδομάδα

**Κύτταρα HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920****Post-Thaw Recovery**

Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα  $5 \times 10^4$  κύτταρα/cm<sup>2</sup> και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.

**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation Atmosphere**

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

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

### Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

### Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου  $-150$  έως  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Η αποθήκευση στους  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

## Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

### Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.