

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

## Üldine teave

## Description

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry rakuliin on geneetiliselt muundatud rakumudel, mida kasutatakse laialdaselt kromosoomide segregatsiooni ja spindli kokkupaneku kontrollpunkti uurimiseks mitoosi ajal. Need rakud on saadud HeLa Kyoto rakkudest, mis on algselt emakakaela kartsinoomist võetud tugev inimrakkude liin. Rakuliini HK Mad2-LAP (LAP-märgistatud Mad2) aspekt hõlbustab Mad2 valgu, spindli kokkupaneku kontrollpunkti kriitilise komponendi, mis takistab anafaasi algust, kuni kõik kromosoomid on metafasiplaadil korralikult joondunud, visualiseerimist ja funktsionaalset analüüsi.

H2B-mCherry lisamine, kus histoon H2B on märgistatud mCherry fluorestseeruva valguga, võimaldab kromatiini dünaamika kujutamist reaajas raku jagunemise ajal. See omadus muudab HK Mad2-LAP/H2B-mCherry rakuliini suurepäraseks vahendiks kõrge resolutsiooniga elusraku pildistamismeetodite jaoks, et jälgida kromosoomide liikumist ja mitoosi kulgu inimrakkudes erinevates katsetingimustes. Fluorestseeruvate märgiste kasutamine aitab kaasa täpsele jälgimisele ja kvantifitseerimisele, andes seeläbi väärtuslikke teadmisi rakutsükli reguleerimise ja kromosoomide stabiilsuse molekulaarsetest mehhanismidest.

**Organism** Inimene

**Tissue** Emakakael

**Disease** Kartsinoom

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

## Omadused

**Age** 30 aastat

**Gender** Naised

**Ethnicity** Afroameeriklane

**Morphology** Epiteelilaadsed rakud, millel on mosaiikne kivikuju

**Growth properties** Monokihiline, kleepuv

## Regulatiivsed andmed

**Citation** HK Mad2-LAP/H2B-mCherry (Cytioni katalooginumber 300920)

**Biosafety level** 1

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

<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1D65
<b>Depositor</b>	Ellenbergi labor (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: See HeLa Kyoto liin sisaldab Mad2-LAP ja H2B-mCherry konstruktsioone, mis võimaldavad visualiseerida spindli kontrollpunkti dünaamikat. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

## Biomolekulaarsed andmed

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

## Töötlemine

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
-----------------------	---

<b>Supplements</b>	Täiendada söötme 10% FBS-ga
--------------------	-----------------------------

<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
-----------------------------	----------

<b>Subculturing</b>	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
---------------------	--

<b>Seeding density</b>	1 x 10 <sup>4</sup> rakku/cm <sup>2</sup>
------------------------	---

<b>Fluid renewal</b>	2 kuni 3 korda nädalas
----------------------	------------------------

<b>Post-Thaw Recovery</b>	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5 x 10 <sup>4</sup> rakku/cm <sup>2</sup> ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.
---------------------------	--

<b>Freeze medium</b>	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.
----------------------	--

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

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Freezing  
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping  
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

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

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.