

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

Yleisiä tietoja

Description

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry -solulinja on geneettisesti muunnettu solumalli, jota käytetään laajalti kromosomien segregaatoin ja karan kokoonpanon tarkistuspisteen tutkimiseen mitotoosin aikana. Nämä solut on johdettu HeLa Kyoto -soluista, jotka ovat alun perin kohdunkaulan karsinoomasta peräisin oleva vankka ihmisen solulinja. Solulinjan HK Mad2-LAP (LAP-tagged Mad2) -aspekti helpottaa Mad2-proteiinin visualisointia ja toiminnallista analyysia, joka on kriittinen komponentti spindelin kokoonpanon tarkistuspisteessä, joka estää anafaasin alkamisen, kunnes kaikki kromosomit ovat kunnolla linjassa metafaasilevyllä.

H2B-mCherryn, jossa histoni H2B on merkitty mCherryn fluoresoivalla proteiinilla, sisällyttäminen mahdollistaa kromatiinin dynamiikan reaaliaikaisen kuvantamisen solun jakautumisen aikana. Tämä ominaisuus tekee HK Mad2-LAP/H2B-mCherry -solulinjasta erinomaisen välineen korkean resoluution live-cell-kuvantamistekniikoille, joilla voidaan tarkkailla kromosomien liikkeitä ja mitotoosin etenemistä ihmisoluissa erilaisissa koeolosuhteissa. Fluoresoivien tunnistajien käyttö auttaa tarkassa seurannassa ja kvantifioinnissa, jolloin saadaan arvokasta tietoa solusyklin säätelyä ja kromosomien vakautta säätelevistä molekyyli mekanismeista.

Organism

Ihminen

Tissue

Kohdunkaula

Disease

Syöpä

Synonyms

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

Ominaisuudet

Age

30 vuotta

Gender

Nainen

Ethnicity

Afroamerikkalainen

Morphology

Epiteelin kaltaiset solut, joilla on mosaiikkimaisen kiven muotoinen rakenne

Growth properties

Yksikerroksinen, tarttuva

Säätelytiedot

Citation

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry (Cytionin luettelonumero 300920)

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

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D65**Depositor** Ellenbergin laboratorio (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Tämä HeLa Kyoto -linja sisältää Mad2-LAP- ja H2B-mCherry-rakenteita, jotka mahdollistavat spindel-tarkistuspisteen dynamiikan visualisoinnin. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.**Biomolekyylitiedot****Protein expression** Mad2-LAP/H2B-mCherry**Käsittely****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Seeding density** 1×10^4 solua/cm²**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Post-Thaw Recovery** Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

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

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

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

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.