

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry sejtek | 300920

Általános információk

Description

A HK Mad2-LAP/H2B-mCherry sejt vonal egy genetikailag módosított sejtmodell, amelyet széles körben használnak a kromoszómaszegregáció és az orsó-összeszerelési ellenőrzőpont tanulmányozására a mitózis során. Ezek a sejtek a HeLa Kyoto sejtekből származnak, egy robusztus emberi sejt vonalból, amelyet eredetileg méhnyakrákból nyertek. A sejt vonal HK Mad2-LAP (LAP-tagged Mad2) aspektusa megkönnyíti a Mad2 fehérje vizualizálását és funkcionális elemzését, amely az orsó-összeszerelési ellenőrzőpont kritikus összetevője, amely megakadályozza az anafázis kezdetét mindaddig, amíg az összes kromoszóma megfelelően nem igazodik a metafázis lemezen.

A H2B-mCherry beépítése, ahol a hiszton H2B-t mCherry fluoreszcens fehérjével jelölik, lehetővé teszi a kromatin dinamikájának valós idejű képalkotását a sejt osztódás során. Ez a tulajdonság teszi a HK Mad2-LAP/H2B-mCherry sejt vonalat kiváló eszközzé a nagy felbontású élő sejt képalkotó technikákhoz, amelyekkel a kromoszómák mozgását és a mitotikus progressziót lehet megfigyelni emberi sejtekben különböző kísérleti körülmények között. A fluoreszcens címkék használata segíti a pontos nyomon követést és számszerűsítést, ezáltal értékes betekintést nyújt a sejt ciklus szabályozását és a kromoszóma stabilitását irányító molekuláris mechanizmusokba.

Organism Emberi

Tissue Cervix

Disease Karcinóma

Synonyms HeLa Kiotói Mad2-LAP és H2B-mCherry, HeLa Kiotói Mad2-LAP

Jellemzők

Age 30 év

Gender Női

Ethnicity Afroamerikai

Morphology Epithelszerű, mozaikos kő alakú sejtek

Growth properties Monoréteg, tapadó

Szabályozási adatok

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

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry sejtek | 300920

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D65**Depositor** Az Ellenberg Labor (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ez a HeLa Kyoto vonal Mad2-LAP és H2B-mCherry konstrukciókat tartalmaz, amelyek lehetővé teszik a spindle checkpoint dinamikájának vizualizálását. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, más országokban eltérő lehet.**Biomolekuláris adatok****Protein expression** Mad2-LAP/H2B-mCherry**A kezelése****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Seeding density** 1×10^4 sejt/cm²**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal**Post-Thaw Recovery** Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry sejtek | 300920**Freeze medium**

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry sejtek | 300920

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.