

Sel HK Mad2-LAP / H2B-mCherry | 300920

Informasi umum

Description

Lini sel HK Mad2-LAP/H2B-mCherry adalah model sel yang direkayasa secara genetik yang digunakan secara ekstensif untuk mempelajari pemisahan kromosom dan pos pemeriksaan perakitan spindle selama mitosis. Sel-sel ini berasal dari sel HeLa Kyoto, garis sel manusia yang kuat yang awalnya diambil dari karsinoma serviks. Aspek HK Mad2-LAP (LAP-tagged Mad2) dari garis sel memfasilitasi visualisasi dan analisis fungsional protein Mad2, komponen penting dari pos pemeriksaan perakitan spindle yang mencegah timbulnya anafase hingga semua kromosom disejajarkan dengan benar pada lempeng metafase.

Penggabungan H2B-mCherry, di mana histon H2B ditandai dengan protein fluoresen mCherry, memungkinkan pencitraan dinamika kromatin secara real-time selama pembelahan sel. Fitur ini menjadikan garis sel HK Mad2-LAP/H2B-mCherry sebagai alat yang sangat baik untuk teknik pencitraan sel hidup beresolusi tinggi untuk mengamati pergerakan kromosom dan perkembangan mitosis dalam sel manusia dalam berbagai kondisi eksperimental. Penggunaan tag fluoresen membantu pelacakan dan kuantifikasi yang tepat, sehingga memberikan wawasan yang berharga ke dalam mekanisme molekuler yang mengatur regulasi siklus sel dan stabilitas kromosom.

Organism

Manusia

Tissue

Serviks

Disease

Karsinoma

Synonyms

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

Karakteristik

Age

30 tahun

Gender

Perempuan

Ethnicity

Afrika-Amerika

Morphology

Sel mirip epitel dengan bentuk batu mosaik

Growth properties

Monolayer, patuh

Data Peraturan

Citation

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry (nomor katalog Cytion 300920)

Sel HK Mad2-LAP / H2B-mCherry | 300920

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D65**Depositor** Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Garis sel HeLa Kyoto ini mengandung konstruksi Mad2-LAP dan H2B-mCherry yang memungkinkan visualisasi dinamika titik pemeriksaan spindle. Klasifikasi ini berlaku hanya di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.**Data Biomolekuler****Protein expression** Mad2-LAP / H2B-mCherry**Penanganan****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)**Supplements** Tambahkan media dengan 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.**Seeding density** 1×10^4 sel/cm²**Fluid renewal** 2 hingga 3 kali per minggu**Post-Thaw Recovery** Setelah dicairkan, tanam sel pada kepadatan 5×10^4 sel/cm² dan biarkan sel pulih dari proses pembekuan serta menempel setidaknya selama 24 jam.

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

Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $300 \times g$ selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembabkan.

Flask Coating

Tidak ada

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel HK Mad2-LAP / H2B-mCherry | 300920

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196°C . Penyimpanan pada suhu -80°C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.