

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry šūnas | 300920

Vispārīga informācija

Description

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry šūnu līnija ir ģenētiski modificēts šūnu modelis, ko plaši izmanto hromosomu segregācijas un vārpstas montāžas kontrolpunkta izpētei mitozes laikā. Šīs šūnas ir atvasinātas no HeLa Kyoto šūnām - izturīgas cilvēka šūnu līnijas, kas sākotnēji iegūta no dzemdes kakla karcinomas. Šūnu līnijas HK Mad2-LAP (ar LAP iezīmēts Mad2) aspekts atvieglo Mad2 proteīna vizualizāciju un funkcionālo analīzi, kas ir vārpstas montāžas kontrolpunkta kritisks komponents, kurš novērš anafāzes sākšanos, kamēr visas hromosomas nav pareizi izlīdzinātas metafāzes plāksnē.

H2B-mCherry iekļaušana, kur histons H2B ir marķēts ar mCherry fluorescējošo proteīnu, ļauj reāllaikā attēlot hromatīna dinamiku šūnu dalīšanās laikā. Šī īpašība padara HK Mad2-LAP/H2B-mCherry šūnu līniju par lielisku rīku augstas izšķirtspējas dzīvās šūnu attēlveidošanas metodēm, lai novērotu hromosomu kustību un mitozes progresu cilvēka šūnās dažādos eksperimentālos apstākļos. Fluorescējošo marķieru izmantošana palīdz precīzi izsekot un kvantitatīvi noteikt, tādējādi sniedzot vērtīgu ieskatu molekulārajos mehānismos, kas regulē šūnu cikla regulāciju un hromosomu stabilitāti.

Organism

Cilvēks

Tissue

Dzemdes kakls

Disease

Karcinoma

Synonyms

HeLa Kyoto Kioto Mad2-LAP un H2B-mCherry, HeLa Kyoto Kioto Mad2-LAP

Raksturojums

Age

30 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Afroamerikānis

Morphology

Epitēlijveidīgas šūnas ar mozaikveida akmens formu

Growth properties

Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

Citation

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry (Cytion kataloga numurs 300920)

Biosafety level

1

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry šūnas | 300920

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D65
Depositor	Ellenberga laboratorija (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Šī HeLa Kyoto līnija satur Mad2-LAP un H2B-mCherry konstrukcijas, kas ļauj vizualizēt vārpstas kontroles punkta dinamiku. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Protein expression	Mad2-LAP/H2B-mCherry
---------------------------	----------------------

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
-----------------------	---

Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
--------------------	-------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
---------------------	--

Seeding density	1 x 10 ⁴ šūnas/cm ²
------------------------	---

Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
----------------------	------------------------

Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas izklaidējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5 x 10 ⁴ šūnas/cm ² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.
---------------------------	--

Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
----------------------	---

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry šūnas | 300920**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry šūnas | 300920

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.