

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

## Algemene informatie

## Description

De HK Mad2-LAP/H2B-mCherry cellijn is een genetisch gemanipuleerd celmodel dat uitgebreid gebruikt wordt voor het bestuderen van chromosoomsegregatie en het controlepunt van de spindelassemlage tijdens mitose. Deze cellen zijn afgeleid van HeLa Kyoto-cellen, een robuuste menselijke cellijn oorspronkelijk afkomstig van een baarmoederhalskanker. Het HK Mad2-LAP (LAP-tagged Mad2) aspect van de cellijn vergemakkelijkt de visualisatie en functionele analyse van het Mad2 eiwit, een kritisch onderdeel van het spindel assemblage controlepunt dat het begin van de anafase voorkomt totdat alle chromosomen goed uitgelijnd zijn op de metafase plaat.

De integratie van H2B-mCherry, waarbij histon H2B is gelabeld met het mCherry fluorescentie-eiwit, zorgt voor real-time beeldvorming van de dynamiek van chromatine tijdens de celdeling. Deze eigenschap maakt de HK Mad2-LAP/H2B-mCherry cellijn een uitstekend hulpmiddel voor hoge-resolutie live-cell imaging technieken om chromosomale bewegingen en mitotische progressie te observeren in menselijke cellen onder verschillende experimentele omstandigheden. Het gebruik van fluorescerende tags helpt bij het nauwkeurig volgen en kwantificeren, waardoor waardevolle inzichten worden verkregen in de moleculaire mechanismen die de celcyclus reguleren en de chromosomale stabiliteit bepalen.

## Organism

Mens

## Tissue

Baarmoederhals

## Disease

Carcinoom

## Synonyms

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

## Kenmerken

## Age

30 jaar

## Gender

Vrouw

## Ethnicity

Afro-Amerikaan

## Morphology

Epitheelachtige cellen met mozaïeksteenvorm

## Growth properties

Monolaag, adherent

## Regelgevende gegevens

## Citation

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry (Cytion catalogusnummer 300920)

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

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1D65**Depositor** Het Ellenberg Lab (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Deze HeLa Kyoto-lijn bevat Mad2-LAP- en H2B-mCherry-constructen waarmee de dynamiek van het spindelcontrolepunt kan worden gevisualiseerd. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders afwijken.**Biomoleculaire gegevens****Protein expression** Mad2-LAP/H2B-mCherry**Omgaan met****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.**Split ratio** Een verhouding van 1:3 wordt aanbevolen**Seeding density**  $1 \times 10^4$  cellen/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week**Post-Thaw Recovery** Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van  $5 \times 10^4$  cellen/cm<sup>2</sup> en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.

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

### Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

### Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij  $300 \times g$  om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , bevochtigde atmosfeer.

### Flask Coating

Geen

### Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

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

### Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

### Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

## Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

### Sterility

Mycoplasmacontaminatie wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.