

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

Generell informasjon

Description

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry-cellelinjen er en genmodifisert cellemodell som er mye brukt til å studere kromosomsegregering og kontrollpunktet for spindelmontering under mitose. Disse cellene er avledet fra HeLa Kyoto-celler, en robust human cellelinje som opprinnelig stammer fra livmorhalskreft. HK Mad2-LAP (LAP-tagged Mad2) i cellelinjen gjør det lettere å visualisere og analysere Mad2-proteinet, en kritisk komponent i spindelmonteringskontrollen som forhindrer at anafasen starter før alle kromosomene er riktig justert ved metafaseplaten.

Inkorporering av H2B-mCherry, der histon H2B er merket med det fluorescerende proteinet mCherry, gjør det mulig å avbilde kromatindynamikken i sanntid under celledeling. Denne egenskapen gjør HK Mad2-LAP/H2B-mCherry-cellelinjen til et utmerket verktøy for høyoppløselige avbildningsteknikker i levende celler for å observere kromosombevegelser og mitotisk progresjon i humane celler under ulike eksperimentelle forhold. Bruken av fluorescerende merker bidrar til presis sporing og kvantifisering, og gir dermed verdifull innsikt i de molekylære mekanismene som styrer cellyklusregulering og kromosomstabilitet.

Organism

Menneskelig

Tissue

Livmorhalsen

Disease

Karsinom

Synonyms

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

Kjennetegn

Age

30 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Afroamerikaner

Morphology

Epitel-lignende celler med mosaikksteinform

Growth properties

Monolag, vedheftende

Regulatoriske data

Citation

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

Biosafety level

1

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

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D65
Depositor	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linjen inneholder Mad2-LAP- og H2B-mCherry-konstruksjoner som muliggjør visualisering av spindelkontrollpunktdynamikk. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

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

Håndtering

Culture Medium	DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO ₃ , m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
--------------------	-----------------------------

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

Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
---------------------	--

Split ratio	Et forhold på 1:3 anbefales
--------------------	-----------------------------

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

Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke
----------------------	------------------------

Post-Thaw Recovery	Etter tining, plasser cellene på 5 x 10 ⁴ celler/cm ² og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.
---------------------------	---

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

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

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

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.