

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

## Allmän information

## Description

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry-cellinjen är en genetiskt modifierad cellmodell som används flitigt för att studera kromosomsegregering och kontrollpunkten för spindelmontering under mitos. Dessa celler härrör från HeLa Kyoto-celler, en robust mänsklig cellinje som ursprungligen togs från ett livmoderhalscancer. Cellinjens HK Mad2-LAP-aspekt (LAP-tagged Mad2) underlättar visualiseringen och den funktionella analysen av Mad2-proteinet, en kritisk komponent i spindelmonterings-kontrollpunkten som förhindrar anafasstart tills alla kromosomer är korrekt inriktade på metafaspattan.

Inkorporering av H2B-mCherry, där histon H2B är märkt med det fluorescerande proteinet mCherry, möjliggör realtidsavbildning av kromatinets dynamik under celledningen. Denna egenskap gör HK Mad2-LAP/H2B-mCherry-cellinjen till ett utmärkt verktyg för högupplösta tekniker för avbildning av levande celler för att observera kromosomrörelser och mitotisk progression i mänskliga celler under olika experimentella förhållanden. Användningen av fluorescerande taggar underlättar exakt spårning och kvantifiering och ger därmed värdefulla insikter i de molekylära mekanismer som styr cellcykelreglering och kromosomstabilitet.

**Organism** Människan

**Tissue** Cervix

**Disease** Carcinom

**Synonyms** HeLa Kyoto Mad2-LAP och H2B-mCherry, HeLa Kyoto Mad2-LAP

## Egenskaper

**Age** 30 år

**Gender** Kvinna

**Ethnicity** Afroamerikan

**Morphology** Epitelliknande celler med mosaikstensform

**Growth properties** Monolager, vidhäftande

## Lagstadgade uppgifter

**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: Denna HeLa Kyoto-linje innehåller Mad2-LAP- och H2B-mCherry-konstruktioner som möjliggör visualisering av spindelkontrollpunktens dynamik. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.**Biomolekylära data****Protein expression** Mad2-LAP/H2B-mCherry**Hantering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.**Split ratio** Ett förhållande på 1:3 rekommenderas**Seeding density**  $1 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka**Post-Thaw Recovery** Efter upptining, plattlägg cellerna med  $5 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup> och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 24 timmar.

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

### Freeze medium

Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfrysad vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeskuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid  $300 \times g$  i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturrövar; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befuktad atmosfär.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

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

### Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

### Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.