

Bunky HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Všeobecné informácie

Description

Bunková línia HK Mad2-LAP/H2B-mCherry je geneticky upravený bunkový model, ktorý sa vo veľkej miere využíva na štúdium segregácie chromozómov a kontrolného bodu zostavenia vretienka počas mitózy. Tieto bunky sú odvodené od buniek HeLa Kyoto, robustnej ľudskej bunkovej línie pôvodne získanej z karcinómu krčka maternice. Aspekt bunkovej línie HK Mad2-LAP (LAP-tagged Mad2) uľahčuje vizualizáciu a funkčnú analýzu proteínu Mad2, kritickej súčasti kontrolného bodu montáže vretienka, ktorý zabraňuje nástupu anafázy, kým nie sú všetky chromozómy správne zarovnané na metafázovej platni.

Inkorporácia H2B-mCherry, kde je histón H2B označený fluorescenčným proteínom mCherry, umožňuje v reálnom čase zobrazovať dynamiku chromatínu počas delenia bunky. Táto vlastnosť robí z bunkovej línie HK Mad2-LAP/H2B-mCherry vynikajúci nástroj pre techniky zobrazovania živých buniek s vysokým rozlíšením na pozorovanie pohybov chromozómov a mitotického vývoja v ľudských bunkách za rôznych experimentálnych podmienok. Použitie fluorescenčných značiek pomáha pri presnom sledovaní a kvantifikácii, čím poskytuje cenné poznatky o molekulárnych mechanizmoch regulácie bunkového cyklu a chromozómovej stability.

Organism Ľudské

Tissue Cervix

Disease Karcinóm

Synonyms HeLa Kyoto Mad2-LAP a H2B-mCherry, HeLa Kyoto Mad2-LAP

Charakteristika

Age 30 rokov

Gender Ženy

Ethnicity Afroameričan

Morphology Epitelové bunky s mozaikovým tvarom kameňa

Growth properties Monovrstva, priliehajúca

Regulačné údaje

Citation HK Mad2-LAP/H2B-mCherry (katalógové číslo Cytion 300920)

Biosafety level 1

Bunky HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D65**Depositor** Ellenbergova laboratória (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Táto línia HeLa Kyoto obsahuje konštrukty Mad2-LAP a H2B-mCherry, ktoré umožňujú vizualizáciu dynamiky kontrolného bodu vretienka. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.**Biomolekulárne údaje****Protein expression** Mad2-LAP/H2B-mCherry**Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Seeding density** 1 x 10⁴ buniek/cm²**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5 x 10⁴ buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

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

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.