

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

## Splošne informacije

## Description

Celična linija HK Mad2-LAP/H2B-mCherry je gensko spremenjen celični model, ki se pogosto uporablja za preučevanje segregacije kromosomov in kontrolne točke sestavljanja vretena med mitozo. Te celice so pridobljene iz celic HeLa Kyoto, robustne človeške celične linije, ki je bila prvotno vzeta iz karcinoma materničnega vratu. Vidik celične linije HK Mad2-LAP (Mad2 z oznako LAP) omogoča vizualizacijo in funkcionalno analizo beljakovine Mad2, ki je kritična sestavina kontrolne točke sestavljanja vretena, ki preprečuje začetek anafaza, dokler niso vsi kromosomi pravilno poravnani na ploščici metafaza.

Vključitev H2B-mCherry, kjer je histon H2B označen s fluorescenčnim proteinom mCherry, omogoča slikanje dinamike kromatina med delitvijo celic v realnem času. Zaradi te lastnosti je celična linija HK Mad2-LAP/H2B-mCherry odlično orodje za tehnike slikanja v živo z visoko ločljivostjo za opazovanje gibanja kromosomov in mitotičnega napredovanja v človeških celicah pod različnimi eksperimentalnimi pogoji. Uporaba fluorescenčnih oznak pomaga pri natančnem sledenju in kvantifikaciji ter tako zagotavlja dragocen vpogled v molekularne mehanizme, ki uravnavajo celični cikel in kromosomsko stabilnost.

**Organism** Človek

**Tissue** Maternični vrat

**Disease** Karcinom

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

## Značilnosti

**Age** 30 let

**Gender** Ženske

**Ethnicity** Afroameričan

**Morphology** Epitelnim celicam podobne celice z obliko mozaičnih kamenčkov

**Growth properties** Enoslojni, adherentni

## Regulativni podatki

**Citation** HK Mad2-LAP/H2B-mCherry (katalogska številka Cytion 300920)

**Biosafety level** 1

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

<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1D65
<b>Depositor</b>	Laboratorij Ellenberg (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Ta linija HeLa Kyoto vsebuje konstrukte Mad2-LAP in H2B-mCherry, ki omogočajo vizualizacijo dinamike kontrolne točke vretena. Ta klasifikacija velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.

## Biomolekularni podatki

<b>Protein expression</b>	Mad2-LAP/H2B-mCherry
---------------------------	----------------------

## Ravnanje s spletno stranjo

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)
-----------------------	---

<b>Supplements</b>	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
--------------------	------------------------------

<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
-----------------------------	----------

<b>Subculturing</b>	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
---------------------	--

<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ celic/cm <sup>2</sup>
------------------------	---------------------------------------

<b>Fluid renewal</b>	2 do 3-krat na teden
----------------------	----------------------

<b>Post-Thaw Recovery</b>	Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti $5 \times 10^4$ cel <sup>ic</sup> /cm <sup>2</sup> in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.
---------------------------	--

<b>Freeze medium</b>	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.
----------------------	--

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

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri  $300 \times g$  3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , vlažno ozračje.

**Flask Coating**

Nič

**Freezing  
Procedure**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

**Shipping  
Conditions**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

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

### Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

## Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

### Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.