

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry Hücreleri | 300920

Genel bilgi

Description

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry hücre hattı, mitoz sırasında kromozom ayrımı ve iğ düzeneği kontrol noktasını incelemek için yaygın olarak kullanılan genetik olarak tasarlanmış bir hücre modelidir. Bu hücreler, aslen servikal karsinomdan alınan sağlam bir insan hücre hattı olan HeLa Kyoto hücrelerinden türetilmiştir. Hücre hattının HK Mad2-LAP (LAP etiketli Mad2) özelliği, tüm kromozomlar metafaz plakasında düzgün bir şekilde hizalanana kadar anafaz başlangıcını önleyen iğ düzeneği kontrol noktasının kritik bir bileşeni olan Mad2 proteininin görselleştirilmesini ve işlevsel analizini kolaylaştırır.

Histon H2B'nin mCherry floresan proteini ile etiketlendiği H2B-mCherry'nin dahil edilmesi, hücre bölünmesi sırasında kromatin dinamiklerinin gerçek zamanlı olarak görüntülenmesini sağlar. Bu özellik, HK Mad2-LAP/H2B-mCherry hücre hattını, çeşitli deneysel koşullar altında insan hücrelerinde kromozomal hareketleri ve mitotik ilerlemeyi gözlemlemek için yüksek çözünürlüklü canlı hücre görüntüleme teknikleri için mükemmel bir araç haline getirmektedir. Floresan etiketlerin kullanımı hassas izleme ve kantifikasyona yardımcı olarak hücre döngüsü düzenlemesi ve kromozomal stabiliteyi yöneten moleküler mekanizmalar hakkında değerli bilgiler sağlar.

Organism İnsan

Tissue Serviks

Disease Karsinom

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

Özellikler

Age 30 yıl

Gender Kadın

Ethnicity Afro-Amerikan

Morphology Mozaik taş şekilli epitel benzeri hücreler

Growth properties Tek katmanlı, yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation HK Mad2-LAP/H2B-mCherry (Cytion katalog numarası 300920)

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry Hücreleri | 300920**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D65**Depositor** Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Bu HeLa Kyoto hattı, iğ kontrol noktası dinamiklerinin görselleştirilmesini sağlayan Mad2-LAP ve H2B-mCherry yapıları içerir. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya içinde geçerlidir ve başka ülkelerde farklılık gösterebilir.**Biyomoleküler Veriler****Protein expression** Mad2-LAP/H2B-mCherry**Elleçleme****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Seeding density** 1×10^4 hücre/cm²**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**Post-Thaw Recovery** Çözüldükten sonra, hücreleri 5×10^4 hücre/cm² olarak plakaya yerleştirin ve hücrelerin dondurma işleminden kurtulmasını ve en az 24 saat boyunca yapışmasını bekleyin.

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

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyovialleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry Hücreleri | 300920

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.