

Клітини НК Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія НК Mad2-LAP/H2B-mCherry - це генно-інженерна клітинна модель, яка широко використовується для вивчення сегрегації хромосом і контрольної точки веретена поділу під час мітозу. Ці клітини отримані з клітин HeLa Kyoto, стійкої лінії клітин людини, отриманої з карциноми шийки матки. НК Mad2-LAP (LAP-мічений Mad2) аспект клітинної лінії полегшує візуалізацію та функціональний аналіз білка Mad2, критично важливого компонента контрольної точки веретена, який запобігає настанню анафази, доки всі хромосоми не будуть належним чином вирівняні на метафазній пластинці.

Включення H2B-mCherry, де гістон H2B мічений флуоресцентним білком mCherry, дозволяє візуалізувати динаміку хроматину під час поділу клітини в режимі реального часу. Ця особливість робить клітинну лінію НК Mad2-LAP/H2B-mCherry чудовим інструментом для методів візуалізації живих клітин з високою роздільною здатністю для спостереження за рухом хромосом і мітотичною прогресією в клітинах людини за різних експериментальних умов. Використання флуоресцентних міток сприяє точному відстеженню та кількісному визначенню, тим самим надаючи цінну інформацію про молекулярні механізми, що регулюють регуляцію клітинного циклу та стабільність хромосом.

Organism

Людина

Tissue

Шийка матки

Disease

Карцинома

Synonyms

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

Характеристики

Age

30 років

Gender

Жінка

Ethnicity

Афроамериканець

Morphology

Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю

Growth properties

Одношаровий, адгезійний

Нормативні дані

Citation

НК Mad2-LAP/H2B-mCherry (номер за каталогом Cytion 300920)

Клітини НК Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D65**Depositor** Лабораторія Елленберга (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ця лінія HeLa Kyoto містить конструкти Mad2-LAP і H2B-mCherry, що дозволяють візуалізувати динаміку контрольної точки веретена. Ця класифікація застосовується тільки в Німеччині і може відрізнятись в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Protein expression Mad2-LAP/H2B-mCherry

Обробка

Culture Medium ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO₃, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS**Dissociation Reagent** Аккутаза**Subculturing** Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.**Seeding density** 1×10^4 клітин/см²**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень**Post-Thaw Recovery** Після розморожування висійте клітини з щільністю 5×10^4 клітин/см² і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.

Клітини НК Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Freeze medium

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення криоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

Клітини НК Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.