Product sheet

Tế bào HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Thông tin chung

Description	Dòng tế bào HK Mad2-LAP/H2B-mCherry là một mô hình tế bào được biến đổi gen được sử dụng rộng rãi để nghiên cứu sự phân chia nhiễm sắc thể và điểm kiểm tra lắp ráp sợi phân bào trong quá trình phân bào. Các tế bào này được phân lập từ dòng tế bào HeLa Kyoto, một dòng tế bào người mạnh mẽ ban đầu được lấy từ một khối u cổ tử cung. Thành phần HK Mad2-LAP (Mad2 gắn thẻ LAP) của dòng tế bào này cho phép quan sát và phân tích chức năng của protein Mad2, một thành phần quan trọng của điểm kiểm tra lắp ráp sợi tơ, ngăn chặn sự bắt đầu của giai đoạn anaphase cho đến khi tất cả các nhiễm sắc thể được sắp xếp đúng cách trên tấm metaphase. Việc tích hợp H2B-mCherry, trong đó histone H2B được gắn với protein huỳnh quang mCherry, cho phép quan sát động học của chromatin trong quá trình phân chia tế bào theo thời gian thực. Tính năng này khiến dòng tế bào HK Mad2-LAP/H2B-mCherry trở thành công cụ tuyệt vời cho các kỹ thuật quan sát tế bào sống độ phân giải cao để theo dõi chuyển động của nhiễm sắc thể và tiến trình phân bào trong tế bào người dưới các điều kiện thí nghiệm khác nhau. Việc sử dụng các nhãn huỳnh quang giúp theo dõi và định lượng chính xác, từ đó cung cấp những hiểu biết quý giá về các cơ chế phân tử điều chỉnh chu kỳ tế bào và sự ổn định của nhiễm sắc thể.
Organism	Con người
Tissue	Cổ tử cung
Disease	Ung thư biểu mô
Synonyms	HeLa Kyoto Mad2-LAP và H2B-mCherry, HeLa Kyoto Mad2-LAP

Đặc điểm

Age	30 năm
Gender	Nữ
Ethnicity	Người Mỹ gốc Phi
Morphology	Tế bào có hình dạng giống biểu mô với cấu trúc dạng đá mozaic
Growth properties	Lớp đơn, bám dính

Dữ liệu quy định

Citation	HK Mad2-LAP/H2B-mCherry (Số catalog Cytion 300920)
Biosafety level	1

Tế bào HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D65
Depositor	Phòng thí nghiệm Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Dòng tế bào HeLa Kyoto này chứa các cấu trúc Mad2-LAP và H2B-mCherry, cho phép quan sát động học của điểm kiểm soát thoi phân bào. Phân loại này chỉ áp dụng trong phạm vi Đức và có thể khác nhau ở các khu vực khác.

Dữ liệu sinh học phân tử

Protein expression	Mad2-LAP/H2B-mCherry

Xử lý

Culture Medium	DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L $NaHCO_3$, chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)
Supplements	Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.
Seeding density	1×10^4 tế bào/cm^2
Fluid renewal	2 đến 3 lần mỗi tuần
Post-Thaw Recovery	Sau khi rã đông, cấy tế bào với mật độ 5 x 10^4 tế bào/cm^2 và để tế bào phục hồi sau quá trình đông lạnh và bám dính ít nhất 24 giờ.

Tế bào HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.
Thawing and Culturing Cells	1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển. 2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức. 3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ. 4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở. 5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ. 6. Ly tâm hỗn hợp ở 300 x g trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại. 7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả. 8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% CO_2, môi trường ẩm.
Flask Coating	Không có
Freezing Procedure	Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào HK Mad2-LAP/H2B-mCherry | 300920

Shipping Conditions	Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.
Storage Conditions	Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng −150 đến −196 °C. Việc bảo quản ở −80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility	Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang. Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.