HK Mad2-LAP/H2B-mCherry

300920

OBECNÉ INFORMACE

Popis

Buněčná linie HK Mad2-LAP/H2B-mCherry je geneticky upravený buněčný model hojně využívaný ke studiu segregace chromozomů a kontrolního bodu sestavení vřeténka během mitózy. Tyto buňky jsou odvozeny z buněk HeLa Kyoto, robustní lidské buněčné linie původně odebrané z karcinomu děložního hrdla. Aspekt buněčné linie HK Mad2-LAP (Mad2 značený LAP) usnadňuje vizualizaci a funkční analýzu proteinu Mad2, kritické součásti kontrolního bodu sestavení vřeténka, který brání nástupu anafáze, dokud nejsou všechny chromozomy správně zarovnány na metafázní destičce.
Inkorporace H2B-mCherry, kdy je histon H2B označen fluorescenčním proteinem mCherry, umožňuje zobrazovat dynamiku chromatinu v reálném čase během buněčného dělení. Díky této vlastnosti je buněčná linie HK Mad2-LAP/H2B-mCherry vynikajícím nástrojem pro zobrazovací techniky s vysokým rozlišením v živých buňkách, které umožňují pozorovat pohyby chromozomů a mitotický vývoj v lidských buňkách za různých experimentálních podmínek. Použití fluorescenčních značek napomáhá přesnému sledování a kvantifikaci, čímž poskytuje cenné poznatky o molekulárních mechanismech regulujících buněčný cyklus a stabilitu chromozomů.

Tkáň	Cervix
Nemoc	Karcinom

Synonyma

- HeLa Kyoto Mad2-LAP and H2B-mCherry
- HeLa Kyoto Mad2-LAP

KLASIFIKACE

Organismus	Člověk
Sex	Žena
Růstové vlastnosti	Přívrženec
Stav GMO	GMO-S1

Podrobnosti o statusu GMO

GMO-S1: This HeLa Kyoto line contains Mad2-LAP and H2B-mCherry constructs enabling visualization of spindle checkpoint dynamics. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Úroveň biologické bezpečnosti	1

CHARAKTERISTIKA

Morfologie	Buňky podobné epitelu s mozaikovitým tvarem kamínků

IDENTIFIKÁTORY

Citace

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

Daňové identifikační číslo NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_1D65
Vkladatel	Ellenbergova laboratoř (EMBL)

EXPRESE A NÁCHYLNOST

Exprese proteinů

Mad2-LAP/H2B-mCherry

MANIPULACE A CHOV

Pěstovací médium

DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Inkubační atmosféra	37 °C, 5 %CO2, zvlhčená atmosféra.

Doplňky stravy

Doplňte médium o 10% FBS

Disociační činidlo	Accutase

Subkultivace

Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Hustota výsevu	1 x 10^4 buněk/cm^2
Obnova tekutin	2 až 3krát týdně
Zotavení po rozmrazení	Po rozmrazení naneste buňky v množství 5 x 10^4 buněk/cm^2 a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.

Rozmrazování a kultivace

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KONTROLA KVALITY A KRYOKONZERVACE

Sterilita

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Mrazicí médium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Podmínky skladování

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Dopravní podmínky

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

DÁRCE

Věk dárce	30 let
Etnická příslušnost	Afroameričan

PRÁVNÍ INFORMACE A BEZPEČNOSTNÍ POKYNY

Bezpečnostní opatření

Při plánování uložení kryovialu v kapalném dusíku pro budoucí rozmrazení je nutné dodržovat přísná bezpečnostní opatření. Nezbytné jsou vhodné ochranné rukavice a oděv a při přenášení zmrazených vzorků do nádrže s kapalným dusíkem nebo z ní je nutné používat obličejovou masku nebo ochranné brýle. To proto, aby se snížilo riziko zranění v důsledku možných výbuchů kryovialů při jejich vyjímání, které mohou mít za následek vystřelování ostrých úlomků.

Záruka

Ve společnosti Cytion si stojíme za kvalitou a životaschopností našich produktů.
Zaručujeme, že naše buňky budou životaschopné na začátku kultivace po dobu 60 dnů po odeslání z našich zařízení.
Zaručujeme, že všechny materiály odpovídají specifikacím popsaným v certifikátu analýzy a/nebo v produktovém listu
Úplné informace naleznete v našem <a href=""/Kdo-jsme/Záruka/"" hreflang=""x-default"">Záručním prohlášení

Platí smlouvy s třetími stranami	Yes