HK Mad2-LAP/H2B-mCherry

300920

GENERAL INFORMATION

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.

Tissue	Cổ tử cung
Disease	Ung thư biểu mô

Synonyms

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

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

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.

Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	Tế bào có hình dạng giống biểu mô với cấu trúc dạng đá mozaic

IDENTIFIERS

Citation

HK Mad2-LAP/H2B-mCherry (Số catalog Cytion 300920)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_1D65
Depositor	Phòng thí nghiệm Ellenberg (EMBL)

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

Mad2-LAP/H2B-mCherry

HANDLING AND CULTURE

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)

Incubation atmosphere	37°C, 5%CO_2, môi trường ẩm.

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.

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

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.

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 cải thiện quá trình phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

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.

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.

DONOR

Donor age	30 năm
Ethnicity	Người Mỹ gốc Phi

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Khi lập kế hoạch lưu trữ ống cryovial trong nitơ lỏng để rã đông sau này, việc tuân thủ các biện pháp an toàn nghiêm ngặt là bắt buộc. Găng tay và quần áo bảo hộ phù hợp là điều cần thiết, và việc sử dụng khẩu trang hoặc kính bảo hộ là bắt buộc trong quá trình chuyển mẫu đông lạnh vào hoặc ra khỏi bể nitơ lỏng. Điều này nhằm giảm thiểu nguy cơ chấn thương do nổ ống cryovial khi lấy ra, có thể dẫn đến việc văng ra các mảnh vỡ sắc nhọn.

Warranty

Tại Cytion, chúng tôi cam kết về chất lượng và khả năng sống của các sản phẩm của mình.
Chúng tôi đảm bảo rằng các tế bào của chúng tôi sẽ có khả năng sống tại thời điểm bắt đầu nuôi cấy trong
60 ngày kể từ khi vận chuyển từ cơ sở của chúng tôi.
Chúng tôi cam kết rằng tất cả các vật liệu tuân thủ các thông số kỹ thuật được mô tả trong
Giấy chứng nhận phân tích và/hoặc Tài liệu sản phẩm.
Để biết chi tiết đầy đủ, vui lòng tham khảo
<a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Tuyên bố Bảo hành.

Third-party agreements apply	Yes