

Клетки НК-CRISPR-CAP-D3-mEGFP | 301573

Обща информация

Description

Клетъчната линия НК-CRISPR-CAP-D3-mEGFP е генетично разработена за напреднали клетъчни изследвания. Произведена от клетки HeLa Kyoto, тя използва технологията CRISPR/Cas9 за маркиране на гена CAP-D3 с мономерен подобрен зелен флуоресцентен протеин (mEGFP). CAP-D3 е от решаващо значение за хромозомната организация и сегрегация по време на клетъчното делене. Тагът mEGFP позволява визуализиране на динамиката на CAP-D3 в реално време.

Тази клетъчна линия е ценен инструмент за изучаване на хромозомната стабилност и цялост, особено при заболявания като рак. Флуоресцентният маркер позволява изобразяване на живи клетки с висока разделителна способност и подробен анализ на CAP-D3 по време на клетъчния цикъл. Изследователите могат да използват този модел за изследвания на локализацията на протеини и анализи на молекулярни взаимодействия.

Organism Човек

Tissue Ендоцервикс

Disease Аденокарцином

Synonyms НК-CRISPR-CAP-D3-mEGFP #16, НК CRISPR CAP-D3-mEGFP

Характеристики

Age 30 години

Gender Жена

Ethnicity Афроамериканец

Morphology Епителиални клетки с форма на мозаечно камъче

Growth properties Придържащи се

Регулаторни данни

Citation НК-CRISPR-CAP-D3-mEGFP (каталожен номер 301573 на Cytion)

Biosafety level 1

Клетки НК-CRISPR-CAP-D3-mEGFP | 301573

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_UR44
Depositor	Лабораторията на Елънбърг (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Тази линия HeLa Kyoto съдържа CRISPR-инженерно вмѡкване на mEGFP в локуса CAP-D3 за изследвания на кондензина. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекуларни данни

Products	EGFP (подобрен зелен флуоресцентен протеин)
-----------------	---

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
--------------------	-----------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
---------------------	---

Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
----------------------	----------------------

Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.
----------------------	---

Клетки НК-CRISPR-CAP-D3-mEGFP | 301573

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки НК-CRISPR-CAP-D3-mEGFP | 301573

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.