Product sheet

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

Обща информация

Description	Клетъчната линия HK-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
Metastatic site	Място на първичния тумор (ендоцервикс)
Applications	Биология на комплекса „Кондензин II“; визуализация на субединицата CAP-D3; организация и сегрегация на хромозомите; митотична динамика; визуализация на живи клетки; флуоресцентна микроскопия с висока разделителна способност; валидиране на CRISPR-knock-in
Synonyms	HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP #16, HK CRISPR CAP-D3-mEGFP

Характеристики

Age	30 години
Gender	Жена
Ethnicity	Афроамериканец
Morphology	Епителиални клетки с форма на мозаечно камъче
Cell type	Епителни клетки
Growth properties	Придържащи се

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

Регулаторни данни

Citation	HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP (каталожен номер 301573 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_UR44
Depositor	Лабораторията на Елънбърг (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Тази линия HeLa Kyoto съдържа CRISPR-инженерно вмъкване 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.

Биомолекулярни 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 NaHCO3, 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

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

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.

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 °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 антимикробен агент с температура 37 °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 разбъркате 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°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.
Flask Coating	Няма

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

Freezing Procedure	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.
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 и молекулярен анализ

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.