

## Клетки НК-CRISPR-CAP-H2-mEGFP | 301569

## Обща информация

## Description

Клетъчната линия НК-CRISPR-CAP-H2-mEGFP е клетъчен модел HeLa Kyoto, разработен с помощта на технологията CRISPR-Cas9. Тази клетъчна линия включва mEGFP (мономерен подобрен зелен флуоресцентен протеин) в гена CAP-H2, който е част от комплекса кондензин II, участващ в сегрегацията и кондензацията на хромозомите по време на митозата. Тагът mEGFP позволява на изследователите да проследяват визуално динамиката на кондензин II по време на клетъчното делене.

Тази клетъчна линия е полезна за изучаване на митотичните процеси, хромозомната архитектура и генната регулация. Маркерът mEGFP дава възможност за изобразяване на живи клетки и наблюдение в реално време на функцията на протеина CAP-H2. Този модел спомага за изследване на молекулярните механизми на прогресията на клетъчния цикъл и хромозомната цялост, като спомага за разбирането на генетичните нарушения и разработването на терапевтични стратегии.

**Organism** Човек

**Tissue** Ендоцервикс

**Disease** Аденокарцином

**Synonyms** НК-CRISPR-CAP-H2-mEGFP #67, НК CRISPR CAP-H2-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-H2-mEGFP (каталожен номер 301569 на Cytion)

**Biosafety level** 1

## Клетки НК-CRISPR-CAP-H2-mEGFP | 301569

**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_UR45**Depositor** Лабораторията на Елънбърг (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Тази линия HeLa Kyoto съдържа CRISPR-интегриран mEGFP таг в локуса CAP-H2, който подпомага анализа на хромозомната структура. Тази класификация се прилага само на територията на Германия и може да се различава на други места.

## 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<sub>3</sub>, 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-H2-mEGFP | 301569

**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 антимикробен 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%  $\text{CO}_2$ , 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-H2-mEGFP | 301569

### Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  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  $-196^{\circ}\text{C}$ . Съхранението при  $-80^{\circ}\text{C}$  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.