

Buňky HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP | 301573**Obecné informace****Description**

Buněčná linie HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP je geneticky upravena pro pokročilý buněčný výzkum. Je odvozena z buněk Hela Kyoto a využívá technologii CRISPR/Cas9 ke značení genu CAP-D3 monomerním zesíleným zeleným fluorescenčním proteinem (mEGFP). CAP-D3 je klíčový pro uspořádání a segregaci chromozomů během buněčného dělení. Značka mEGFP umožňuje vizualizaci dynamiky genu CAP-D3 v reálném čase.

Tato buněčná linie je cenným nástrojem pro studium chromozomální stability a integrity, zejména u onemocnění, jako je rakovina. Fluorescenční značka umožňuje zobrazování živých buněk s vysokým rozlišením a podrobnou analýzu CAP-D3 během buněčného cyklu. Výzkumníci mohou tento model použít pro studie lokalizace proteinů a testy molekulárních interakcí.

Organism Člověk**Tissue** Endocervix**Disease** Adenokarcinom**Synonyms** HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP #16, HK CRISPR CAP-D3-mEGFP**Charakteristika****Age** 30 let**Gender** Ženy**Ethnicity** Afroameričan**Morphology** Buňky podobné epitelu s mozaikovitým tvarem kamínků**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje****Citation** HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP (katalogové číslo Cytion 301573)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606

Buňky HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP | 301573**CellosaurusAccession** CVCL_UR44**Depositor** Ellenbergova laboratoř (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Tato linie HeLa Kyoto obsahuje inert mEGFP vytvořený pomocí CRISPR v lokusu CAP-D3 pro studie kondenzinu. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.**Biomolekulární data****Products** EGFP (zesílený zelený fluorescenční protein)**Zpracování****Culture Medium** 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)**Supplements** Doplňte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adheovaných 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 odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:3**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Freeze medium** 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.

Buňky HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP | 301573**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

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.

**Shipping
Conditions**

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.

Buňky HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP | 301573

Storage Conditions

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.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

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.