

HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP-celler | 301568

Generel information

Description

HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP-cellelinjen er en model, der stammer fra mennesker, og som er udviklet til avancerede genredigerings- og fluorescensanvendelser. Denne cellelinje er baseret på en parental human cellelinje og er blevet modificeret ved hjælp af CRISPR-Cas9-teknologi til at udtrykke et CAP-H-gen (Chromosome-Associated Protein H), der er mærket med monomert Enhanced Green Fluorescent Protein (mEGFP). Denne modifikation giver mulighed for præcis visualisering og sporing af CAP-H, en komponent i kondensinkomplekset, der er afgørende for kromosomkondensering og -stabilisering under celledeling. MEGFP-mærket giver et stærkt og stabilt fluorescenssignal, hvilket gør denne cellelinje ideel til live-celle-billeddannelse og fluorescensbaserede analyser.

HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP-cellelinjen er særlig værdifuld til undersøgelser af cellecyklusregulering, mitose og kromosomdynamik. Forskere kan bruge denne model til at undersøge kondensinkompleksernes rolle i opretholdelsen af kromosomernes integritet, især i kritiske faser som metafase og anafase. Den stabile integration af mEGFP-mærket sikrer ensartet udtryk og pålidelige eksperimentelle resultater, hvilket forbedrer reproducerbarheden på tværs af forskellige undersøgelser.

Organism

Menneske

Tissue

Endocervix

Disease

Adenokarcinom

Synonyms

HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP #86, HK CRISPR CAP-H-mEGFP

Karakteristika

Age

30 år

Gender

Kvinde

Ethnicity

Afroamerikaner

Morphology

Epitel-lignende celler med mosaikstenform

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation

HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP (Cytion katalognummer 301568)

HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP-celler | 301568

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR43**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linje indeholder en CRISPR-medieret mEGFP knock-in på CAP-H-locus, der muliggør live-billeddannelse af mitotisk kromatin. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Products** EGFP (forstærket grønt fluorescerende protein)**Håndtering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP-celler | 301568

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

For at opnå optimal vedhæftning og levedygtighed efter optøning anbefaler vi at bruge **kollagenbelagte kolber eller plader**.

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP-celler | 301568

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.