

HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP-Zellen | 301568**Allgemeine Informationen****Description**

Die HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP-Zelllinie ist ein vom Menschen abstammendes Modell, das für fortgeschrittenes Gene Editing und Fluoreszenzanwendungen entwickelt wurde. Diese Zelllinie basiert auf einer elterlichen menschlichen Zelllinie und wurde mithilfe der CRISPR-Cas9-Technologie modifiziert, um ein CAP-H-Gen (Chromosomen-assoziiertes Protein H) zu exprimieren, das mit monomerem Enhanced Green Fluorescent Protein (mEGFP) markiert ist. Diese Modifikation ermöglicht eine präzise Visualisierung und Verfolgung von CAP-H, einer Komponente des Kondensin-Komplexes, die für die Chromosomenkondensation und -stabilisierung während der Zellteilung entscheidend ist. Der mEGFP-Tag liefert ein starkes und stabiles Fluoreszenzsignal, wodurch sich diese Zelllinie ideal für die Bildgebung in lebenden Zellen und fluoreszenzbasierte Assays eignet.

Die HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP-Zelllinie ist besonders wertvoll für Studien zur Regulierung des Zellzyklus, der Mitose und der chromosomalen Dynamik. Forscher können dieses Modell nutzen, um die Rolle der Kondensinkomplexe bei der Aufrechterhaltung der chromosomalen Integrität zu untersuchen, insbesondere während kritischer Phasen wie der Metaphase und Anaphase. Die stabile Integration des mEGFP-Tags gewährleistet eine konsistente Expression und zuverlässige experimentelle Ergebnisse, wodurch die Reproduzierbarkeit in verschiedenen Studien verbessert wird.

Organism

Menschen

Tissue

Endozervix

Disease

Adenokarzinom

Synonyms

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

Merkmale**Age**

30 Jahre

Gender

Weiblich

Ethnicity

Afroamerikaner

Morphology

Epithelähnliche Zellen mit mosaikartiger Steinform

Growth properties

Adhärenz

Regulatorische Daten**Citation**

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

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

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_UR43

Depositor Das Ellenberg-Labor (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Diese HeLa-Kyoto-Linie enthält einen CRISPR-vermittelten mEGFP-Knock-in am CAP-H-Locus, der die Live-Darstellung von mitotischem Chromatin ermöglicht. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Products EGFP (Enhanced Green Fluorescent Protein)

Handhabung

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Split ratio Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

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

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Um eine optimale Anheftung und Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten, empfehlen wir die Verwendung von **kollagenbeschichteten Flaschen oder Platten**.

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

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

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.