

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

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP είναι ένα μοντέλο ανθρώπινης προέλευσης που έχει σχεδιαστεί για προηγμένες εφαρμογές γονιδιακής επεξεργασίας και φθορισμού. Αυτή η κυτταρική σειρά βασίζεται σε μια γονική ανθρώπινη κυτταρική σειρά και έχει τροποποιηθεί με τη χρήση της τεχνολογίας CRISPR-Cas9 ώστε να εκφράζει ένα γονίδιο CAP-H (Chromosome-Associated Protein H) που φέρει ετικέτα με μονομερή ενισχυμένη πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (mEGFP). Αυτή η τροποποίηση επιτρέπει την ακριβή οπτικοποίηση και παρακολούθηση της CAP-H, ενός συστατικού του συμπλόκου της συμπυκνωμένης ουσίας που είναι ζωτικής σημασίας για τη συμπύκνωση και τη σταθεροποίηση του χρωμοσώματος κατά τη διάρκεια της κυτταρικής διαίρεσης. Η ετικέτα mEGFP παρέχει ένα ισχυρό και σταθερό σήμα φθορισμού, καθιστώντας αυτή την κυτταρική σειρά ιδανική για απεικόνιση ζωντανών κυττάρων και δοκιμασίες με βάση τον φθορισμό.

Η κυτταρική σειρά HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP είναι ιδιαίτερα πολύτιμη για μελέτες στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, τη μίτωση και τη δυναμική των χρωμοσωμάτων. Οι ερευνητές μπορούν να χρησιμοποιήσουν αυτό το μοντέλο για να διερευνήσουν τους ρόλους των συμπλόκων κοντενσίνης στη διατήρηση της χρωμοσωμικής ακεραιότητας, ιδίως κατά τη διάρκεια κρίσιμων φάσεων όπως η μετάφαση και η ανάφαση. Η σταθερή ενσωμάτωση της ετικέτας mEGFP εξασφαλίζει συνεπή έκφραση και αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα, ενισχύοντας την αναπαραγωγιμότητα σε διάφορες μελέτες.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Ενδοτράχηλος

Disease

Αδενοκαρκίνωμα

Synonyms

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

Χαρακτηριστικά

Age

30 χρόνια

Gender

Γυναίκα

Ethnicity

Αφροαμερικανός

Morphology

Επιθηλιακά κύτταρα με ψηφιδωτό σχήμα πέτρας

Growth properties

Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

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

Citation	HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP (αριθμός καταλόγου Cytion 301568)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_UR43
Depositor	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η γραμμή HeLa Kyoto περιέχει ένα CRISPR-μεσολαβούμενο mEGFP knock-in στον τόπο CAP-H που επιτρέπει τη ζωντανή απεικόνιση της μιτωτικής χρωματίνης. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

Βιομοριακά δεδομένα

Products	EGFP (ενισχυμένη πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη)
-----------------	---

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP | 301568**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing
Procedure**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

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

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.