

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

Üldine teave

Description

HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP rakuliin on inimesest saadud mudel, mis on loodud täiustatud geenitöötuse ja fluorestsenteerimise rakenduste jaoks. See rakuliin põhineb inimese vanemrakuliinil ja seda on muudetud CRISPR-Cas9 tehnoloogia abil, et ekspresseerida CAP-H (kromosoomiga seotud valk H) geeni, mis on märgistatud monomeerse tõhustatud rohelise fluorestsenteeruva valguga (mEGFP). See modifikatsioon võimaldab kromosoomi kondenseerumise ja stabiliseerumise seisukohalt olulise kromosoomikompleksi CAP-H täpset visualiseerimist ja jälgimist raku jagunemise ajal. MEGFP-märgis annab tugeva ja stabiilse fluorestsentsisignaali, mis muudab selle rakuliini ideaalseks elusraku kujutamiseks ja fluorestsentsil põhinevateks analüüsideks.

HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP rakuliin on eriti väärtuslik rakutsükli reguleerimise, mitoosi ja kromosoomide dünaamika uurimiseks. Teadlased saavad seda mudelit kasutada, et uurida kondensiinikomplekside rolli kromosoomi terviklikkuse säilitamisel, eriti kriitilistes faasides, nagu metafaas ja anafaas. MEGFP-märgise stabiilne integreerimine tagab järjepideva ekspressiooni ja usaldusväärsed katsetulemused, mis parandab reprodutseeritavust erinevates uuringutes.

Organism Inimene

Tissue Endocervix

Disease Adenokartsinoom

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

Omadused

Age 30 aastat

Gender Naised

Ethnicity Afroameeriklane

Morphology Epiteelilaadsed rakud, millel on mosaiikne kivikuju

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP (Cytioni katalooginumber 301568)

Biosafety level 1

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

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR43**Depositor** Ellenbergi labor (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: See HeLa Kyoto liin sisaldab CRISPR-vahendatud mEGFP knock-in'i CAP-H lokuses, mis võimaldab mitootilise kromatiini pildistamist reaajajas. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Products EGFP (tõhustatud roheline fluorestseeruv valk)

Töötlemine

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

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

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

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

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.