

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

Yleisiä tietoja

Description

HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP-solulinja on ihmisestä peräisin oleva malli, joka on kehitetty edistynyttä geenieditointia ja fluoresenssisovelluksia varten. Tämä solulinja perustuu ihmisen vanhempien solulinjaan, ja se on muunnettu CRISPR-Cas9-tekniikalla ilmentämään CAP-H-geeniä (Chromosome-Associated Protein H), joka on merkitty monomeerisellä tehostetulla vihreällä fluoresoivalla proteiinilla (mEGFP). Tämä modifikaatio mahdollistaa CAP-H:n tarkan visualisoinnin ja seurannan. CAP-H on kromosomien tiivistymisen ja stabiloinnin kannalta ratkaisevan tärkeä kondensiinikompleksin osa solunjakautumisen aikana. MEGFP-tunniste tuottaa voimakkaan ja vakaan fluoresenssisignaalin, minkä ansiosta tämä solulinja sopii erinomaisesti elävien solujen kuvantamiseen ja fluoresenssiin perustuviin määrittäksiin.

HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP-solulinja on erityisen arvokas solusyklin säätelyn, mitoosin ja kromosomidynamiikan tutkimuksissa. Tutkijat voivat käyttää tätä mallia tutkiessaan kondensiinikompleksien roolia kromosomien eheyden ylläpitämisessä erityisesti kriittisissä vaiheissa, kuten metafasisissa ja anafasisissa. MEGFP-tunnisteen vakaa integrointi takaa johdonmukaisen ilmentymisen ja luotettavat kokeelliset tulokset, mikä parantaa toistettavuutta eri tutkimuksissa.

Organism

Ihminen

Tissue

Endocervix

Disease

Adenokarsinooma

Synonyms

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

Ominaisuudet

Age

30 vuotta

Gender

Nainen

Ethnicity

Afroamerikkalainen

Morphology

Epiteelin kaltaiset solut, joilla on mosaiikkimaisen kiven muotoinen rakenne

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation

HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP (Cytionin luettelonumero 301568)

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

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR43**Depositor** Ellenbergin laboratorio (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Tämä HeLa Kyoto -linja sisältää CRISPR-välitteisen mEGFP-kopioinnin CAP-H-lokuksessa, joka mahdollistaa mitoottisen kromatiinin elävän kuvantamisen. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.**Biomolekyylitiedot****Products** EGFP (tehostettu vihreä fluoresoiva proteiini)**Käsittely****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

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

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

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

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.