

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

Általános információk

Description

A HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP sejt vonal egy humán eredetű modell, amelyet fejlett génszerkesztési és fluoreszcens alkalmazásokhoz terveztek. Ez a sejt vonal egy szülői humán sejt vonalon alapul, és CRISPR-Cas9 technológiával módosították, hogy a CAP-H (Chromosome-Associated Protein H) gént monomer Enhanced Green Fluorescent Protein (mEGFP) címkével ellátva expresszálja. Ez a módosítás lehetővé teszi a CAP-H, a sejt osztódás során a kromoszóma kondenzációjában és stabilizálásában kulcsfontosságú kromoszóma-komplex egyik összetevőjének pontos vizualizálását és nyomon követését. A mEGFP tag erős és stabil fluoreszcenciajelet biztosít, így ez a sejt vonal ideális élő sejtek képzésére és fluoreszcencia-alapú vizsgálatokra.

A HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP sejt vonal különösen értékes a sejt ciklus szabályozásának, a mitózisnak és a kromoszóma dinamikájának vizsgálatához. A kutatók ezt a modellt felhasználhatják a kondenzinkomplexek szerepének vizsgálatára a kromoszóma integritásának fenntartásában, különösen az olyan kritikus fázisokban, mint a metafázis és az anafázis. A mEGFP tag stabil integrációja biztosítja a konzisztens expressziót és a megbízható kísérleti eredményeket, ami fokozza a különböző vizsgálatok közötti reprodukálhatóságot.

Organism

Emberi

Tissue

Endocervix

Disease

Adenokarcinóma

Synonyms

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

Jellemzők

Age

30 év

Gender

Női

Ethnicity

Afroamerikai

Morphology

Epithelszerű, mozaikos kő alakú sejtek

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Citation

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

Biosafety level

1

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

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR43**Depositor** Az Ellenberg Labor (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ez a HeLa Kiotói vonal CRISPR-mediált mEGFP knock-in-t tartalmaz a CAP-H lokuszon, amely lehetővé teszi a mitotikus kromatin élő képalkotását. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.**Biomolekuláris adatok****Products** EGFP (Fokozott zöld fluoreszcens fehérje)**A kezelése****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

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

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

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

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 °C és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.