

HK-CRISPR-CAP-H2-mEGFP sejtek | 301569

Általános információk

Description

A HK-CRISPR-CAP-H2-mEGFP sejt vonal egy CRISPR-Cas9 technológiával kifejlesztett Hela Kyoto sejtmodell. Ez a sejt vonal a mEGFP-t (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) építi be a CAP-H2 génbe, amely a mitózis során a kromoszómaszegregációban és -kondenzációban részt vevő kondenzin II komplex része. A mEGFP tag lehetővé teszi a kutatók számára, hogy vizuálisan nyomon kövessék a kondenzin II dinamikáját a sejtosztódás során.

Ez a sejt vonal hasznos a mitotikus folyamatok, a kromoszóma-architektúra és a génszabályozás tanulmányozására. A mEGFP marker lehetővé teszi az élő sejtek képalkotását és a CAP-H2 fehérje működésének valós idejű megfigyelését. Ez a modell segít a sejtciklus progressziójának és a kromoszóma integritásának molekuláris mechanizmusainak vizsgálatában, segítve a genetikai rendellenességek megértését és a terápiás stratégiák kidolgozását.

Organism Emberi

Tissue Endocervix

Disease Adenokarcinóma

Synonyms HK-CRISPR-CAP-H2-mEGFP #67, HK CRISPR CAP-H2-mEGFP, HK CRISPR CAP-H2-mEGFP

Jellemzők

Age 30 év

Gender Női

Ethnicity Afroamerikai

Morphology Epithelszerű, mozaikos kő alakú sejtek

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation HK-CRISPR-CAP-H2-mEGFP (Cytion katalógusszám 301569)

Biosafety level 1

HK-CRISPR-CAP-H2-mEGFP sejtek | 301569

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR45**Depositor** Az Ellenberg Labor (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ez a HeLa Kiotói vonal CRISPR-integrált mEGFP taget tartalmaz a CAP-H2 lokuszon, amely támogatja a kromoszóma-szerkezet elemzését. 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-H2-mEGFP sejtek | 301569

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-H2-mEGFP sejtek | 301569

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -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 és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -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.