

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

Informasi umum

Description

Garis sel HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP adalah model turunan manusia yang direkayasa untuk pengeditan gen tingkat lanjut dan aplikasi fluoresensi. Garis sel ini didasarkan pada garis sel manusia orang tua dan telah dimodifikasi menggunakan teknologi CRISPR-Cas9 untuk mengekspresikan gen CAP-H (Chromosome-Associated Protein H) yang ditandai dengan monomer Enhanced Green Fluorescent Protein (mEGFP). Modifikasi ini memungkinkan visualisasi dan pelacakan CAP-H yang tepat, komponen kompleks kondensin yang penting untuk kondensasi kromosom dan stabilisasi selama pembelahan sel. Tag mEGFP memberikan sinyal fluoresensi yang kuat dan stabil, menjadikan garis sel ini ideal untuk pencitraan sel hidup dan pengujian berbasis fluoresensi.

Garis sel HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP sangat berharga untuk studi dalam regulasi siklus sel, mitosis, dan dinamika kromosom. Para peneliti dapat menggunakan model ini untuk menyelidiki peran kompleks kondensin dalam menjaga integritas kromosom, terutama selama fase kritis seperti metafase dan anafase. Integrasi yang stabil dari tag mEGFP memastikan ekspresi yang konsisten dan hasil eksperimental yang dapat diandalkan, meningkatkan reproduktifitas di berbagai penelitian.

Organism

Manusia

Tissue

Endoserviks

Disease

Adenokarsinoma

Synonyms

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

Karakteristik

Age

30 tahun

Gender

Perempuan

Ethnicity

Afrika-Amerika

Morphology

Sel mirip epitel dengan bentuk batu mosaik

Growth properties

Patuh

Data Peraturan

Citation

HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP (Nomor katalog Cytion 301568)

Sel HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP | 301568**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR43**Depositor** Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Garis HeLa Kyoto ini mengandung mEGFP yang dimediasi oleh CRISPR pada lokus CAP-H yang memungkinkan pencitraan langsung kromatin mitosis. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.**Data Biomolekuler****Products** EGFP (Enhanced Green Fluorescent Protein)**Penanganan****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)**Supplements** Tambahkan media dengan 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.**Fluid renewal** 2 hingga 3 kali per minggu**Freeze medium** Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

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

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada 300 x g selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembabkan.

Flask Coating

Untuk perlekatan dan kelangsungan hidup yang optimal setelah pencairan, kami sarankan untuk menggunakan **labu atau pelat berlapis kolagen**.

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

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

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196°C . Penyimpanan pada suhu -80°C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.