

Cellule HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP | 301568**Informazioni generali****Description**

La linea cellulare HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP è un modello di derivazione umana ingegnerizzato per applicazioni avanzate di editing genico e fluorescenza. Questa linea cellulare si basa su una linea cellulare umana parentale ed è stata modificata con la tecnologia CRISPR-Cas9 per esprimere un gene CAP-H (Chromosome-Associated Protein H) marcato con la proteina fluorescente verde potenziata monomerica (mEGFP). Questa modifica consente di visualizzare e seguire con precisione CAP-H, un componente del complesso della condensina, fondamentale per la condensazione e la stabilizzazione dei cromosomi durante la divisione cellulare. Il tag mEGFP fornisce un segnale di fluorescenza forte e stabile, rendendo questa linea cellulare ideale per l'imaging di cellule vive e per saggi basati sulla fluorescenza.

La linea cellulare HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP è particolarmente preziosa per gli studi sulla regolazione del ciclo cellulare, sulla mitosi e sulla dinamica cromosomica. I ricercatori possono utilizzare questo modello per studiare il ruolo dei complessi di condensina nel mantenimento dell'integrità cromosomica, soprattutto durante fasi critiche come la metafase e l'anafase. L'integrazione stabile del tag mEGFP garantisce un'espressione coerente e risultati sperimentali affidabili, migliorando la riproducibilità in diversi studi.

Organism

Umano

Tissue

Endocervice

Disease

Adenocarcinoma

Synonyms

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

Caratteristiche**Age**

30 anni

Gender

Donna

Ethnicity

Afroamericano

Morphology

Cellule simili a quelle epiteliali con forma di pietra a mosaico

Growth properties

Aderente

Dati normativi**Citation**

HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP (numero di catalogo Cytion 301568)

Cellule HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP | 301568**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR43**Depositor** Il laboratorio Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: questa linea HeLa Kyoto contiene un knock-in mEGFP mediato da CRISPR nel locus CAP-H che consente di visualizzare in diretta la cromatina mitotica. Questa classificazione si applica solo in Germania e può variare altrove.**Dati biomolecolari****Products** EGFP (proteina verde fluorescente potenziata)**Manipolazione****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Split ratio** Si raccomanda un rapporto di 1:3**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

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

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

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

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.