

HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP ląstelės | 301573

Bendra informacija

Description

HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP ląstelių linija yra genetiškai sukurta pažangiems ląstelių tyrimams. Joje, gautoje iš Hela Kyoto ląstelių, naudojant CRISPR/Cas9 technologiją, CAP-D3 genas žymimas monomeriniu sustiprintu žaliuoju fluorescenciniu baltymu (mEGFP). CAP-D3 yra labai svarbus chromosomų organizavimui ir segregacijai dalijantis ląstelėms. MEGFP žymė leidžia realiuoju laiku vizualizuoti CAP-D3 dinamiką.

Ši ląstelių linija yra vertinga priemonė chromosomų stabilumui ir vientisumui tirti, ypač sergant tokiomis ligomis kaip vėžys. Fluorescencinė žyma leidžia atlikti didelės skiriamosios gebos tiesioginį ląstelių vaizdavimą ir išsamią CAP-D3 analizę ląstelės ciklo metu. Mokslininkai gali naudoti šį modelį baltymų lokalizacijos tyrimams ir molekulinės sąveikos tyrimams.

Organism Žmogus

Tissue Endocervix

Disease Adenokarcinoma

Synonyms HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP #16, HK CRISPR CAP-D3-mEGFP

Charakteristikos

Age 30 metų

Gender Moteris

Ethnicity Afroamerikietis

Morphology Į epitelį panašios ląstelės su mozaikos formos akmenukais

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP (Cytion katalogo numeris 301573)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP ląstelės | 301573

CellosaurusAccession CVCL_UR44**Depositor** Ellenbergo laboratorija (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: šioje HeLa Kyoto linijoje yra CRISPR būdu sukurtas mEGFP įterpimas CAP-D3 lokuse, skirtas kondensino tyrimams. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.**Biomolekuliniai duomenys****Products** EGFP (sustiprintas žaliasis fluorescuojantis baltymas)**Tvarkymas****Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP ląstelės | 301573

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP ląstelės | 301573

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Laikymas $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.