

HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP šūnas | 301568

Vispārīga informācija

Description

HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP šūnu līnija ir no cilvēka atvasināts modelis, kas izstrādāts modernai gēnu rediģēšanai un fluorescences lietojumiem. Šī šūnu līnija ir balstīta uz cilvēka vecāku šūnu līniju un ir modificēta, izmantojot CRISPR-Cas9 tehnoloģiju, lai ekspresētu CAP-H (hromosomu asociētais proteīns H) gēnu, kas marķēts ar monomerisku pastiprinātu zaļo fluorescējošo proteīnu (mEGFP). Šī modifikācija ļauj precīzi vizualizēt un izsekot CAP-H, kas ir kondensīna kompleksa sastāvdaļa, kura ir būtiska hromosomu kondensācijai un stabilizācijai šūnu dalīšanās laikā. mEGFP marķējums nodrošina spēcīgu un stabilu fluorescences signālu, tāpēc šī šūnu līnija ir ideāli piemērota dzīvu šūnu attēlveidošanai un uz fluorescenci balstītiem testiem.

HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP šūnu līnija ir īpaši vērtīga šūnu cikla regulācijas, mitozes un hromosomu dinamikas pētījumiem. Pētnieki var izmantot šo modeli, lai pētītu kondensīna kompleksu lomu hromosomu integritātes saglabāšanā, īpaši tādās kritiskās fāzēs kā metafāze un anafāze. Stabila mEGFP tagu integrācija nodrošina konsekventu ekspresiju un uzticamus eksperimentu rezultātus, uzlabojot reproducējamību dažādos pētījumos.

Organism

Cilvēks

Tissue

Endocervix

Disease

Adenokarcinoma

Synonyms

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

Raksturojums

Age

30 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Afroamerikānis

Morphology

Epitēlijveidīgas šūnas ar mozaikveida akmens formu

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP (Cytion kataloga numurs 301568)

Biosafety level

1

HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP šūnas | 301568

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR43**Depositor** Ellenberga laboratorija (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Šī HeLa Kyoto līnija satur CRISPR mediētu mEGFP knock-in CAP-H lokusā, kas ļauj attēlot mitotisko hromatīnu. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.**Biomolekulārie dati****Products** EGFP (uzlabots zaļais fluorescējošais proteīns)**Darbs ar****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanas un samazinātu krioinducēto stresu.

HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP šūnas | 301568

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP šūnas | 301568

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.