

HK-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP-cellen | 301572

Algemene informatie

Description

De HK-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP cellijn is een genetisch gemodificeerde Hela Kyoto cellijn. Deze cellen, die zijn ontwikkeld met behulp van CRISPR/Cas9-technologie, brengen het CAP-D2-eiwit tot expressie dat is versmolten met monomeer Enhanced Green Fluorescent Protein (mEGFP), waardoor real-time visualisatie van de dynamiek van CAP-D2 mogelijk wordt. Met de mEGFP-marker kunnen onderzoekers de lokalisatie van eiwitten, het transport en de interacties binnen de cellen bestuderen.

De genetische aanpassingen geven inzicht in de rol van CAP-D2 in cellulaire signalering, cytoskeletorganisatie en stressresponsen. Daarnaast verbetert de fluorescente marker live-cell imaging en high-throughput screening, waardoor deze cellijn essentieel is voor zowel fundamenteel als toegepast onderzoek.

Organism

Mens

Tissue

Endocervix

Disease

Adenocarcinoom

Synonyms

HK-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP #272-78, HK CRISPR CAP-D2-mEGFP

Kenmerken

Age

30 jaar

Gender

Vrouw

Ethnicity

Afro-Amerikaan

Morphology

Epitheelachtige cellen met mozaïeksteenvorm

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation

HK-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP (Cytion catalogusnummer 301572)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

HK-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP-cellen | 301572

CellosaurusAccession CVCL_UR42**Depositor** Het Ellenberg Lab (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Deze HeLa Kyoto-lijn bevat een CRISPR-engineered mEGFP knock-in op de CAP-D2 locus voor onderzoek naar het condensinecomplex. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders afwijken.**Biomoleculaire gegevens****Products** EGFP (verbeterd groen fluorescerend eiwit)**Omgaan met****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.**Split ratio** Een verhouding van 1:3 wordt aanbevolen**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

HK-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP-cellen | 301572

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

HK-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP-cellen | 301572

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.