

HK-CRISPR-CAP-H2-mEGFP-celler | 301569

Generell informasjon

Description

HK-CRISPR-CAP-H2-mEGFP-cellelinjen er en Hela Kyoto-cellemodell som er utviklet ved hjelp av CRISPR-Cas9-teknologi. Denne cellelinjen inkorporerer mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) i CAP-H2-genet, som er en del av kondensin II-komplekset som er involvert i kromosomsegregering og -kondensering under mitose. Med mEGFP-koden kan forskerne visuelt følge dynamikken i kondensin II under celledelingen.

Denne cellelinjen er nyttig for studier av mitotiske prosesser, kromosomarkitektur og genregulering. MEGFP-markøren muliggjør avbildning av levende celler og observasjon av CAP-H2-proteinets funksjon i sanntid. Denne modellen bidrar til å undersøke de molekylære mekanismene for cellyklusprogresjon og kromosomintegritet, noe som bidrar til forståelsen av genetiske sykdommer og utviklingen av terapeutiske strategier.

Organism

Menneskelig

Tissue

Endocervix

Disease

Adenokarsinom

Synonyms

HK-CRISPR-CAP-H2-mEGFP #67, HK CRISPR CAP-H2-mEGFP

Kjennetegn

Age

30 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Afroamerikaner

Morphology

Epitel-lignende celler med mosaikksteinform

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

HK-CRISPR-CAP-H2-mEGFP (Cytion katalognummer 301569)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

HK-CRISPR-CAP-H2-mEGFP-celler | 301569

CellosaurusAccession CVCL_UR45**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linjen inneholder en CRISPR-integrert mEGFP-tagg ved CAP-H2-lokuset som støtter kromosomstrukturanalyse. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Products** EGFP (Enhanced Green Fluorescent Protein)**Håndtering****Culture Medium** DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** Et forhold på 1:3 anbefales**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

HK-CRISPR-CAP-H2-mEGFP-celler | 301569

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

HK-CRISPR-CAP-H2-mEGFP-celler | 301569

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.