

HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP-celler | 301573**Allmän information****Description**

Cellinjen HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP är genetiskt framtagen för avancerad cellulär forskning. Den härstammar från Hela Kyoto-celler och använder CRISPR/Cas9-teknik för att märka CAP-D3-genen med monomert Enhanced Green Fluorescent Protein (mEGFP). CAP-D3 är avgörande för kromosomal organisation och segregation under celledelning. mEGFP-märkningen möjliggör visualisering av CAP-D3-dynamiken i realtid.

Denna cellinje är ett värdefullt verktyg för att studera kromosomernas stabilitet och integritet, i synnerhet vid sjukdomar som cancer. Den fluorescerande taggen möjliggör högupplösta live-cellavbildningar och detaljerad analys av CAP-D3 under cellcykeln. Forskare kan använda den här modellen för studier av proteinlokalisering och molekylära interaktionsanalyser.

Organism Människan**Tissue** Endocervix**Disease** Adenocarcinom**Synonyms** HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP #16, HK CRISPR CAP-D3-mEGFP**Egenskaper****Age** 30 år**Gender** Kvinna**Ethnicity** Afroamerikan**Morphology** Epitelliknande celler med mosaikstensform**Growth properties** Följsam**Lagstadgade uppgifter****Citation** HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP (Cytion katalognummer 301573)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606

HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP-celler | 301573**CellosaurusAccession** CVCL_UR44**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Denna HeLa Kyoto-linje innehåller en CRISPR-konstruerad mEGFP-insättning vid CAP-D3-locus för studier av kondensin. Denna klassificering gäller endast i Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.**Biomolekylära data****Products** EGFP (förstärkt grönt fluorescerande protein)**Hantering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.**Split ratio** Ett förhållande på 1:3 rekommenderas**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka**Freeze medium** Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

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

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

För optimal vidhäftning och viabilitet efter upptining rekommenderar vi att **kollagenbelagda kolvar eller plattor** används.

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

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

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.