

## Клітини НК-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP | 301572

## Загальна інформація

## Description

Клітинна лінія НК-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP - це генетично модифікована лінія клітин Hela Kyoto. Створені за допомогою технології CRISPR/Cas9, ці клітини експресують білок CAP-D2, злитий з мономерним посиленим зеленим флуоресцентним білком (mEGFP), що дозволяє візуалізувати динаміку CAP-D2 в режимі реального часу. Маркер mEGFP дозволяє дослідникам вивчати локалізацію, переміщення та взаємодію білка в клітинах.

Генетичні модифікації дають уявлення про роль CAP-D2 у клітинній сигналізації, організації цитоскелету та стресових реакціях. Крім того, флуоресцентний маркер покращує візуалізацію живих клітин та високопродуктивний скринінг, що робить цю клітинну лінію важливою як для фундаментальних, так і для прикладних досліджень.

**Organism** Людина

**Tissue** Ендоцервікс

**Disease** Аденокарцинома

**Synonyms** НК-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP #272-78, НК CRISPR CAP-D2-mEGFP

## Характеристики

**Age** 30 років

**Gender** Жінка

**Ethnicity** Афроамериканець

**Morphology** Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю

**Growth properties** Адепт

## Нормативні дані

**Citation** НК-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP (номер за каталогом Cytion 301572)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

## Клітини НК-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP | 301572

**CellosaurusAccession** CVCL\_UR42**Depositor** Лабораторія Елленберга (EMBL)**GMO Status** ГМО-S1: Ця лінія HeLa Kyoto містить нок-ін mEGFP за допомогою CRISPR-інженерії в локусі CAP-D2 для дослідження конденсинового комплексу. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

## Біомолекулярні дані

**Products** EGFP (розширений зелений флуоресцентний білок)

## Обробка

**Culture Medium** ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS**Dissociation Reagent** Аккутаза**Subculturing** Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень**Freeze medium** Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

## Клітини НК-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP | 301572

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

**Flask Coating**

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

**Freezing  
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно  $-78^{\circ}\text{C}$  під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

## Клітини НК-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP | 301572

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.