

Клітини НК-CRISPR-CAP-H-mEGFP | 301568

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія НК-CRISPR-CAP-H-mEGFP - це модель, отримана від людини, створена для вдосконаленого редагування генів та застосування флуоресценції. Ця клітинна лінія створена на основі батьківської лінії клітин людини і модифікована за допомогою технології CRISPR-Cas9 для експресії гена CAP-H (хромосомно-асоційованого білка H), міченого мономерним посиленням зеленим флуоресцентним білком (mEGFP). Ця модифікація дозволяє точно візуалізувати та відстежувати CAP-H, компонент комплексу конденсину, який має вирішальне значення для конденсації та стабілізації хромосом під час клітинного поділу. Мітка mEGFP забезпечує сильний і стабільний флуоресцентний сигнал, що робить цю клітинну лінію ідеальною для візуалізації живих клітин і аналізу на основі флуоресценції.

Клітинна лінія НК-CRISPR-CAP-H-mEGFP особливо цінна для вивчення регуляції клітинного циклу, мітозу та хромосомної динаміки. Дослідники можуть використовувати цю модель для вивчення ролі конденсинових комплексів у підтримці хромосомної цілісності, особливо під час критичних фаз, таких як метафаза та анафаза. Стабільна інтеграція мітки mEGFP забезпечує послідовну експресію та надійні експериментальні результати, покращуючи відтворюваність у різних дослідженнях.

Organism

Людина

Tissue

Ендоцервікс

Disease

Аденокарцинома

Synonyms

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

Характеристики

Age

30 років

Gender

Жінка

Ethnicity

Афроамериканець

Morphology

Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю

Growth properties

Адепт

Нормативні дані

Citation

НК-CRISPR-CAP-H-mEGFP (номер за каталогом Cytion 301568)

Клітини НК-CRISPR-CAP-N-mEGFP | 301568

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR43**Depositor** Лабораторія Елленберга (EMBL)**GMO Status** ГМО-S1: Ця лінія HeLa Kyoto містить CRISPR-опосередкований нок-ін mEGFP у локусі CAP-N, що дозволяє візуалізувати мітотичний хроматин у реальному часі. 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 NaHCO₃, 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 криоконсервування 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-CRISPR-CAP-H-mEGFP | 301568**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°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°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°C , 5% 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°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини НК-CRISPR-CAP-H-mEGFP | 301568

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих 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.