

Клітини НК-CRISPR-CAP-H2-mEGFP | 301569

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія НК-CRISPR-CAP-H2-mEGFP - це модель клітин Hela Kyoto, створена за допомогою технології CRISPR-Cas9. Ця клітинна лінія вбудовує mEGFP (мономерний посилений зелений флуоресцентний білок) в ген CAP-H2, який є частиною комплексу конденсану II, що бере участь у сегрегації та конденсації хромосом під час мітозу. Мітка mEGFP дозволяє дослідникам візуально відстежувати динаміку конденсину II під час клітинного поділу.

Ця клітинна лінія корисна для вивчення мітотичних процесів, архітектури хромосом та генної регуляції. Маркер mEGFP дає змогу візуалізувати живі клітини та спостерігати за функцією білка CAP-H2 в режимі реального часу. Ця модель допомагає досліджувати молекулярні механізми прогресії клітинного циклу та хромосомної цілісності, що сприяє розумінню генетичних розладів та розробці терапевтичних стратегій.

Organism Людина

Tissue Ендоцервікс

Disease Аденокарцинома

Synonyms НК-CRISPR-CAP-H2-mEGFP #67, НК CRISPR CAP-H2-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-H2-mEGFP (номер за каталогом Cytion 301569)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Клітини НК-CRISPR-CAP-H2-mEGFP | 301569

CellosaurusAccession CVCL_UR45**Depositor** Лабораторія Елленберга (EMBL)**GMO Status** ГМО-S1: Ця лінія HeLa Kyoto містить CRISPR-інтегрований mEGFP-тер у локусі CAP-H2, що підтримує аналіз структури хромосом. 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 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-CRISPR-CAP-H2-mEGFP | 301569

**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-H2-mEGFP | 301569

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.