

Cellules HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP | 301568

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP est un modèle d'origine humaine conçu pour des applications avancées d'édition génétique et de fluorescence. Cette lignée cellulaire est dérivée d'une lignée cellulaire humaine parentale et a été modifiée à l'aide de la technologie CRISPR-Cas9 afin d'exprimer le gène CAP-H (protéine H associée aux chromosomes) marqué par une protéine fluorescente verte améliorée monomérique (mEGFP). Cette modification permet une visualisation et un suivi précis de la CAP-H, un composant du complexe de la condensine essentiel à la condensation et à la stabilisation des chromosomes pendant la division cellulaire. Le marqueur mEGFP fournit un signal de fluorescence intense et stable, ce qui rend cette lignée cellulaire idéale pour l'imagerie de cellules vivantes et les essais basés sur la fluorescence.

La lignée cellulaire HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP est particulièrement utile pour les études portant sur la régulation du cycle cellulaire, la mitose et la dynamique chromosomique. Les chercheurs peuvent utiliser ce modèle pour étudier le rôle des complexes de condensine dans le maintien de l'intégrité chromosomique, en particulier durant des phases critiques telles que la métaphase et l'anaphase. L'intégration stable de l'étiquette mEGFP garantit une expression constante et des résultats expérimentaux fiables, ce qui améliore la reproductibilité d'une étude à l'autre.

Organism Humain

Tissue Endocervix

Disease Adénocarcinome

Metastatic site Site de la tumeur primaire (endocervix)

Applications Biologie du complexe Condensin I; imagerie CAP-H; condensation chromosomique; architecture des chromatides mitotiques; imagerie de cellules vivantes; recherche sur le cycle cellulaire; validation des modifications par CRISPR; études sur l'intégrité chromosomique

Synonyms HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP n° 86, HK CRISPR CAP-H-mEGFP

Caractéristiques

Age 30 ans

Gender Femme

Ethnicity Afro-Américain

Morphology Cellules de type épithélial présentant une forme de pierre en mosaïque

Cellules HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP | 301568

Cell type Cellules épithéliales**Growth properties** Adepte**Données réglementaires****Citation** HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP (numéro de catalogue Cytion 301568)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR43**Depositor** Le laboratoire Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1 : Cette lignée HeLa Kyoto contient un knock-in de mEGFP induit par CRISPR au locus CAP-H, permettant l'imagerie en direct de la chromatine mitotique. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut varier ailleurs.**Données biomoléculaires****Products** EGFP (protéine fluorescente verte améliorée)**Manipulation****Culture Medium** DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de NaHCO₃, p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)**Supplements** Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Cellules HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP | 301568

Fluid renewal 2 à 3 fois par semaine

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % de CO₂, atmosphère humidifiée.

Cellules HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP | 301568

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78°C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196°C . L'entreposage à -80°C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.