

Células HK-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP | 301572**Información general****Description**

La línea celular HK-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP es una línea celular Hela Kyoto modificada genéticamente. Diseñadas mediante la tecnología CRISPR/Cas9, estas células expresan la proteína CAP-D2 fusionada con la proteína fluorescente verde mejorada monomérica (mEGFP), lo que permite visualizar en tiempo real la dinámica de CAP-D2. El marcador mEGFP permite a los investigadores estudiar la localización, el tráfico y las interacciones de las proteínas dentro de las células.

Las modificaciones genéticas brindan información sobre el papel de CAP-D2 en la señalización celular, la organización del citoesqueleto y las respuestas al estrés. Además, el marcador fluorescente mejora la obtención de imágenes de células vivas y el cribado de alto rendimiento, lo que hace que esta línea celular sea esencial tanto para la investigación básica como para la aplicada.

Organism

Humano

Tissue

Endocérvix

Disease

Adenocarcinoma

Metastatic site

Localización del tumor primario (endocérvix)

Applications

Biología del complejo condensina I; imágenes de la subunidad CAP-D2; estequiometría de la condensina; organización cromosómica; dinámica del citoesqueleto; imágenes de células vivas; cribado de alto contenido; validación de knock-in con CRISPR

Synonyms

HK-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP n.º 272-78, HK CRISPR CAP-D2-mEGFP

Características**Age**

30 años

Gender

Mujer

Ethnicity

Afroamericano

Morphology

Células de tipo epitelial con forma de piedra en mosaico

Cell type

Células epiteliales

Growth properties

Adherente

Células HK-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP | 301572**Datos normativos**

Citation	HK-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP (número de catálogo de Cytion 301572)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_UR42
Depositor	El Laboratorio Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Esta línea HeLa Kyoto contiene un gen mEGFP introducido mediante CRISPR en el locus CAP-D2 para estudios del complejo de condensina. Esta clasificación se aplica únicamente en Alemania y puede variar en otros lugares.

Datos biomoleculares

Products	EGFP (proteína fluorescente verde mejorada)
-----------------	---

Manejo

Culture Medium	DMEM, p/v: 4,5 g/L de glucosa, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , p/v: 1,0 mM de piruvato de sodio (número de artículo de Cytion 820300a)
Supplements	Añade al medio un 10 % de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfíralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.
Fluid renewal	De 2 a 3 veces por semana

Células HK-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP | 301572

Freeze medium

Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150 °C para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37 °C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrífuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiere todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO₂, atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente -78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Células HK-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP | 301572

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y -196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a -80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.