

Células HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP | 301568**Información general****Description**

La línea celular HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP es un modelo derivado de células humanas diseñado para aplicaciones avanzadas de edición genética y fluorescencia. Esta línea celular se basa en una línea celular humana parental y ha sido modificada mediante la tecnología CRISPR-Cas9 para expresar el gen CAP-H (proteína H asociada a los cromosomas) marcado con la proteína fluorescente verde mejorada monomérica (mEGFP). Esta modificación permite la visualización y el seguimiento precisos de la CAP-H, un componente del complejo condensina que es crucial para la condensación y estabilización cromosómica durante la división celular. El marcador mEGFP proporciona una señal de fluorescencia intensa y estable, lo que hace que esta línea celular sea ideal para la obtención de imágenes de células vivas y ensayos basados en fluorescencia.

La línea celular HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP es particularmente valiosa para estudios sobre la regulación del ciclo celular, la mitosis y la dinámica cromosómica. Los investigadores pueden utilizar este modelo para investigar el papel de los complejos de condensina en el mantenimiento de la integridad cromosómica, especialmente durante fases críticas como la metafase y la anafase. La integración estable de la etiqueta mEGFP garantiza una expresión constante y resultados experimentales confiables, lo que mejora la reproducibilidad entre diferentes estudios.

Organism Humano**Tissue** Endocérvix**Disease** Adenocarcinoma**Metastatic site** Localización del tumor primario (endocérvix)**Applications** Biología del complejo condensina I; imágenes de CAP-H; condensación cromosómica; arquitectura de las cromátidas mitóticas; imágenes de células vivas; investigación del ciclo celular; validación de knock-in con CRISPR; estudios de integridad cromosómica**Synonyms** HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP n.º 86, HK CRISPR CAP-H-mEGFP**Características****Age** 30 años**Gender** Mujer**Ethnicity** Afroamericano**Morphology** Células de tipo epitelial con forma de piedra en mosaico

Células HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP | 301568**Cell type** Células epiteliales**Growth properties** Adherente**Datos normativos****Citation** HK-CRISPR-CAP-H-mEGFP (número de catálogo de Cytion 301568)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR43**Depositor** El Laboratorio Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Esta línea HeLa Kyoto contiene un knock-in de mEGFP mediado por CRISPR en el locus CAP-H, lo que permite la visualización en vivo de la cromatina mitótica. Esta clasificación se aplica únicamente en Alemania y puede variar en otros países.**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 NaHCO₃, 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.

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

Fluid renewal De 2 a 3 veces por semana

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 centrifuga 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, transfiera 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-CRISPR-CAP-H-mEGFP | 301568

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.