

Células HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP | 301573**Información general****Description**

La línea celular HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP ha sido modificada genéticamente para la investigación celular avanzada. Derivada de las células Hela Kyoto, utiliza la tecnología CRISPR/Cas9 para marcar el gen CAP-D3 con la proteína fluorescente verde mejorada monomérica (mEGFP). CAP-D3 es fundamental para la organización y segregación cromosómica durante la división celular. El marcador mEGFP permite visualizar en tiempo real la dinámica de CAP-D3.

Esta línea celular es una herramienta valiosa para estudiar la estabilidad e integridad cromosómicas, particularmente en enfermedades como el cáncer. El marcador fluorescente permite obtener imágenes de alta resolución de células vivas y realizar un análisis detallado de CAP-D3 durante el ciclo celular. Los investigadores pueden utilizar este modelo para estudios de localización de proteínas y ensayos de interacción molecular.

Organism Humano**Tissue** Endocérvix**Disease** Adenocarcinoma**Metastatic site** Localización del tumor primario (endocérvix)**Applications** Biología del complejo condensina II; imágenes de la subunidad CAP-D3; organización y segregación cromosómica; dinámica mitótica; imágenes de células vivas; microscopía de fluorescencia de alta resolución; validación de knock-in mediante CRISPR**Synonyms** HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP n.º 16, HK CRISPR CAP-D3-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-CRISPR-CAP-D3-mEGFP | 301573**Datos normativos**

Citation	HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP (número de catálogo de Cytion 301573)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_UR44
Depositor	El Laboratorio Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Esta línea HeLa Kyoto contiene una inserción de mEGFP modificada mediante CRISPR en el locus CAP-D3 para estudios sobre la 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-CRISPR-CAP-D3-mEGFP | 301573

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % de CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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-D3-mEGFP | 301573

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.