

Células HK-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP | 301572**Informações gerais****Description**

A linhagem celular HK-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP é uma linhagem celular HeLa Kyoto geneticamente modificada. Modificadas com a tecnologia CRISPR/Cas9, essas células expressam a proteína CAP-D2 fundida com a Proteína Fluorescente Verde Aprimorada monomérica (mEGFP), permitindo a visualização em tempo real da dinâmica da CAP-D2. O marcador mEGFP permite que os pesquisadores estudem a localização, o transporte e as interações da proteína dentro das células.

As modificações genéticas fornecem insights sobre o papel da CAP-D2 na sinalização celular, na organização do citoesqueleto e nas respostas ao estresse. Além disso, o marcador fluorescente aprimora a imagem de células vivas e a triagem de alto rendimento, tornando essa linhagem celular essencial tanto para a pesquisa básica quanto para a aplicada.

Organism Humano**Tissue** Endocérvix**Disease** Adenocarcinoma**Metastatic site** Localização do tumor primário (endocérvix)**Applications** Biologia do complexo condensina I; imagens da subunidade CAP-D2; estequiometria da condensina; organização cromossômica; dinâmica do citoesqueleto; imagens de células vivas; triagem de alto conteúdo; validação de knock-in por CRISPR**Synonyms** HK-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP #272-78, HK CRISPR CAP-D2-mEGFP**Características****Age** 30 anos**Gender** Mulher**Ethnicity** afro-americano**Morphology** Células de tipo epitelial com formato de pedra em mosaico**Cell type** Células epiteliais**Growth properties** Aderente

Células HK-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP | 301572**Dados regulatórios**

Citation	HK-2xCRISPR-CAP-D2-mEGFP (número de catálogo da Cytion 301572)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_UR42
Depositor	Laboratório Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Esta linhagem HeLa Kyoto contém um knock-in de mEGFP modificado por CRISPR no locus CAP-D2 para estudos do complexo de condensina. Essa classificação se aplica apenas na Alemanha e pode variar em outros países.

Dados biomoleculares

Products	EGFP (Proteína Fluorescente Verde Aprimorada)
-----------------	---

Manuseio

Culture Medium	DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)
Supplements	Adicione 10% de FBS ao meio
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana

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

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

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

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.