

**Células HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP | 301573****Informações gerais****Description**

A linhagem celular HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP foi geneticamente modificada para pesquisas celulares avançadas. Derivada das células Hela Kyoto, ela utiliza a tecnologia CRISPR/Cas9 para marcar o gene CAP-D3 com a Proteína Fluorescente Verde Aprimorada monomérica (mEGFP). O CAP-D3 é crucial para a organização e segregação cromossômica durante a divisão celular. A marcação com mEGFP permite a visualização em tempo real da dinâmica do CAP-D3.

Essa linha celular é uma ferramenta valiosa para o estudo da estabilidade e integridade cromossômica, particularmente em doenças como o câncer. A marcação fluorescente permite a obtenção de imagens de alta resolução de células vivas e a análise detalhada do CAP-D3 durante o ciclo celular. Os pesquisadores podem utilizar esse modelo para estudos de localização de proteínas e ensaios de interação molecular.

**Organism** Humano**Tissue** Endocérvix**Disease** Adenocarcinoma**Metastatic site** Localização do tumor primário (endocérvix)**Applications** Biologia do complexo condensina II; imagens da subunidade CAP-D3; organização e segregação cromossômica; dinâmica mitótica; imagens de células vivas; microscopia de fluorescência de alta resolução; validação de knock-in por CRISPR**Synonyms** HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP #16, HK CRISPR CAP-D3-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-CRISPR-CAP-D3-mEGFP | 301573****Dados regulatórios**

<b>Citation</b>	HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP (número de catálogo da Cytion 301573)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_UR44
<b>Depositor</b>	Laboratório Ellenberg (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Esta linhagem HeLa Kyoto contém uma inserção de mEGFP modificada por CRISPR no locus CAP-D3 para estudos sobre a condensina. Essa classificação se aplica apenas na Alemanha e pode variar em outros países.

**Dados biomoleculares**

<b>Products</b>	EGFP (Proteína Fluorescente Verde Aprimorada)
-----------------	---

**Manuseio**

<b>Culture Medium</b>	DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO <sub>3</sub> , p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Adicione 10% de FBS ao meio
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	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.
<b>Fluid renewal</b>	2 a 3 vezes por semana

## Células HK-CRISPR-CAP-D3-mEGFP | 301573

### 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 CO<sub>2</sub>, 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-CRISPR-CAP-D3-mEGFP | 301573

### 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.