

Клетки НК EGFP-Cap-D2 | 300675

Обща информация

Description

Клетъчната линия НК EGFP-Cap-D2 е модифициран вариант на клетките HeLa Kyoto, специално създаден за напреднали изследвания в областта на клетъчната биология и генното инженерство. Тази клетъчна линия експресира подобрен зелен флуоресцентен протеин (EGFP), слят със С-края на D2 допаминовия рецептор, което позволява визуализиране на динамиката и разпределението на рецептора в реално време под флуоресцентна микроскопия. Тази функция е особено полезна за изучаване на трафика на рецепторите, сигналните пътища и ефектите на фармакологичните агенти върху поведението на D2 рецепторите.

Тези клетки се използват широко в неврологичните изследвания, за да се разберат по-добре механизмите, лежащи в основата на допаминовата сигнализация, която е от решаващо значение при много неврологични разстройства като болестта на Паркинсон, шизофренията и депресията. Сливането на EGFP с D2 рецептора не засяга нормалната функция на рецептора или неговата клетъчна локализация, което прави НК EGFP-Cap-D2 ценен инструмент за физиологични и патологични изследвания. Стабилната експресия на EGFP позволява също така дългосрочни изследвания в живи клетки, което дава представа за динамичните процеси на регулиране на рецептора и взаимодействието му с други клетъчни компоненти.

Organism Човек

Tissue Цервикс

Disease Карцином

Synonyms HeLa Kyoto EGFP CAP-D2, HeLa Kyoto Cap-D2 EGFP

Характеристики

Age 30 години

Gender Жена

Ethnicity Афроамериканец

Morphology Епителиални клетки с форма на мозаечно камъче

Growth properties Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Клетки НК EGFP-Cap-D2 | 300675

Citation	НК EGFP-Cap-D2 (каталожен номер 300675 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D60
Depositor	Лабораторията на Елзбърг (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Тази линия HeLa Kyoto съдържа конструкция EGFP-Cap-D2, която позволява изследвания на динамиката на кондензин-II в живи клетки. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекуларни данни

Protein expression	EGFP-CAP-D2, Около 80% от клетките показват експресия: Местоположение/ген: 1..589 / Pcmv, 619..645 / Flag-tag, 646..660, 1375..1389/null, 661..1374 / EGFP, 1435..5638/CAP-D2, 6886..7680/KanR/NeoR
Products	CMV Promotor, FLAG октапептид, Глицинов линкер, Неомицин, Фосфотрансфераза

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	1 x 10 ⁴ клетки/cm ²
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично

Клетки НК EGFP-Cap-D2 | 300675**Post-Thaw Recovery**

След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/ cm^2 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^\circ\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура $37\text{ }^\circ\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^\circ\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Клетки НК EGFP-Cap-D2 | 300675

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.