

## HK EGFP-Cap-D2-celler | 300675

## Generel information

## Description

HK EGFP-Cap-D2-cellelinjen er en konstrueret variant af HeLa Kyoto-celler, der er specielt designet til avanceret forskning i cellebiologi og genteknologi. Denne cellelinje udtrykker forstærket grønt fluorescerende protein (EGFP), der er fusioneret til C-terminalen af D2-dopaminreceptoren, hvilket muliggør visualisering af receptordynamik og -fordeling i realtid under fluorescensmikroskopi. Denne funktion er særlig fordelagtig til at studere receptorhandel, signalveje og virkningerne af farmakologiske midler på D2-receptorens adfærd.

Disse celler bruges i vid udstrækning i neurologisk forskning for bedre at forstå de mekanismer, der ligger til grund for dopaminsignaler, som er afgørende for mange neurologiske lidelser som Parkinsons sygdom, skizofreni og depression. Fusionen af EGFP til D2-receptoren påvirker ikke receptorens normale funktion eller dens cellulære lokalisering, hvilket gør HK EGFP-Cap-D2 til et værdifuldt værktøj til fysiologiske og patologiske undersøgelser. Det stabile udtryk af EGFP giver også mulighed for longitudinale studier i levende celler, hvilket giver indsigt i de dynamiske processer i receptorregulering og interaktion med andre cellulære komponenter.

## Organism

Menneske

## Tissue

Livmoderhalsen

## Disease

Karcinom

## Synonyms

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

## Karakteristika

## Age

30 år

## Gender

Kvinde

## Ethnicity

Afroamerikaner

## Morphology

Epitel-lignende celler med mosaikstenform

## Growth properties

Monolag, klæbende

## Regulatoriske data

## Citation

HK EGFP-Cap-D2 (Cytion katalognummer 300675)

## Biosafety level

1

## HK EGFP-Cap-D2-celler | 300675

<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1D60
<b>Depositor</b>	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linje indeholder en EGFP-Cap-D2-konstruktion, der muliggør levende celleundersøgelser af condensin-II-dynamik. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.

## Biomolekylære data

<b>Protein expression</b>	EGFP-CAP-D2, ca. 80 % af cellerne viser udtryk: Placering/gen: 1..589 / Pcmv, 619..645 / Flag-tag, 646..660, 1375..1389/null, 661..1374 / EGFP, 1435..5638/CAP-D2, 6886..7680/KanR/NeoR
---------------------------	---

<b>Products</b>	CMV Promotor, FLAG octapeptid, Glycin linker, Neomycin, Phosphotransferase
-----------------	--

## Håndtering

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
-----------------------	---

<b>Supplements</b>	Suppler mediet med 10% FBS
--------------------	----------------------------

<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
-----------------------------	----------

<b>Subculturing</b>	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
---------------------	--

<b>Seeding density</b>	1 x 10 <sup>4</sup> celler/cm <sup>2</sup>
------------------------	--

<b>Fluid renewal</b>	2 til 3 gange om ugen
----------------------	-----------------------

<b>Post-Thaw Recovery</b>	Efter optøning skal cellerne udplades med 5 x 10 <sup>4</sup> celler/cm <sup>2</sup> , og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.
---------------------------	---

**HK EGFP-Cap-D2-celler | 300675****Freeze medium**

Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

**Incubation Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befugtet atmosfære.

**Flask Coating**

Ingen

**Freezing Procedure**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

## HK EGFP-Cap-D2-celler | 300675

### Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

### Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

## Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.