

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

## Allgemeine Informationen

## Description

Die HK EGFP-Cap-D2-Zelllinie ist eine veränderte Variante der HeLa-Kyoto-Zellen, die speziell für die fortgeschrittene Forschung in der Zellbiologie und Gentechnik entwickelt wurde. Diese Zelllinie exprimiert ein verstärktes grün fluoreszierendes Protein (EGFP), das an den C-Terminus des D2-Dopaminrezeptors fusioniert ist und die Visualisierung der Rezeptordynamik und -verteilung in Echtzeit unter dem Fluoreszenzmikroskop ermöglicht. Diese Eigenschaft ist besonders vorteilhaft für die Untersuchung des Rezeptortransports, der Signalwege und der Auswirkungen von pharmakologischen Wirkstoffen auf das Verhalten des D2-Rezeptors.

Diese Zellen werden in der neurologischen Forschung häufig verwendet, um die Mechanismen der Dopamin-Signalübertragung besser zu verstehen, die bei vielen neurologischen Erkrankungen wie Parkinson, Schizophrenie und Depression eine entscheidende Rolle spielt. Die Fusion von EGFP mit dem D2-Rezeptor beeinträchtigt weder die normale Funktion des Rezeptors noch seine zelluläre Lokalisierung, was HK EGFP-Cap-D2 zu einem wertvollen Instrument für physiologische und pathologische Studien macht. Die stabile Expression von EGFP ermöglicht auch Längsschnittstudien in lebenden Zellen, die Einblicke in die dynamischen Prozesse der Rezeptorregulation und der Interaktion mit anderen zellulären Komponenten ermöglichen.

## Organism

Menschen

## Tissue

Gebärmutterhals

## Disease

Karzinom

## Synonyms

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

## Merkmale

## Age

30 Jahre

## Gender

Weiblich

## Ethnicity

Afroamerikaner

## Morphology

Epithelähnliche Zellen mit mosaikartiger Steinform

## Growth properties

Monolayer, haftend

## Regulatorische Daten

## Citation

HK EGFP-Cap-D2 (Cytion Katalognummer 300675)

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

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1D60**Depositor** Das Ellenberg-Labor (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Diese HeLa-Kyoto-Linie enthält ein EGFP-Cap-D2-Konstrukt, das Live-Zell-Studien zur Dynamik von Condensin II ermöglicht. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.**Biomolekulare Daten****Protein expression** EGFP-CAP-D2, Etwa 80% der Zellen zeigen Expression: Ort/Gen: 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-Octapeptid, Glycin-Linker, Neomycin, Phosphotransferase**Handhabung****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.**Split ratio** Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3**Seeding density**  $1 \times 10^4$  Zellen/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 bis 3 Mal pro Woche

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

### Post-Thaw Recovery

Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von  $5 \times 10^4$  Zellen/cm<sup>2</sup> ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhären lassen.

### Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

### Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%<sub>CO2</sub>, befeuchtete Atmosphäre.

### Flask Coating

Keine

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

### Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

### Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

### Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

## Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

### Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.