

## HK EGFP-Cap-D2 rakud | 300675

## Üldine teave

## Description

HK EGFP-Cap-D2 rakuliin on HeLa Kyoto rakkude muundatud variant, mis on spetsiaalselt loodud rakubioloogia ja geenitehnoloogia alaste kõrgtehnoloogiliste uuringute jaoks. See rakuliin ekspresseerib D2-dopamiinireseptori C-terminuse külge fundeeritud tugevdatud rohelist fluorestseeruvat valku (EGFP), mis võimaldab retseptori dünaamika ja jaotumise visualiseerimist reaajas fluorestsentsmikroskoopia abil. See omadus on eriti kasulik retseptori liikumise, signaaliradade ja farmakoloogiliste ainete mõju D2 retseptori käitumisele uurimiseks.

Neid rakke kasutatakse laialdaselt neuroloogilistes uuringutes, et paremini mõista dopamiini signaalimise aluseks olevaid mehhanisme, mis on otsustava tähtsusega paljude neuroloogiliste häirete, näiteks Parkinsoni tõve, skisofreenia ja depressiooni puhul. EGFP fusioon D2-retseptoriga ei mõjuta retseptori normaalset funktsiooni ega rakulisest lokalisatsioonist, mistõttu on HK EGFP-Cap-D2 väärtuslik vahend füsioloogilistes ja patoloogilistes uuringutes. EGFP stabiilne ekspressioon võimaldab ka pikisuunalisi uuringuid elusrakkudes, andes ülevaate retseptori regulatsiooni dünaamilistest protsessidest ja interaktsioonist teiste rakukomponentidega.

**Organism** Inimene

**Tissue** Emakakael

**Disease** Kartsinoom

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

## Omadused

**Age** 30 aastat

**Gender** Naised

**Ethnicity** Afroameeriklane

**Morphology** Epiteelilaadsed rakud, millel on mosaiikne kivikuju

**Growth properties** Monokihiline, kleepuv

## Regulatiivsed andmed

**Citation** HK EGFP-Cap-D2 (Cytioni katalooginumber 300675)

## HK EGFP-Cap-D2 rakud | 300675

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1D60**Depositor** Ellenbergi labor (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: See HeLa Kyoto liin sisaldab EGFP-Cap-D2 konstruktsiooni, mis võimaldab kondensiin-II dünaamika uurimist elusrakkudes. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.**Biomolekulaarsed andmed****Protein expression** EGFP-CAP-D2, umbes 80% rakkude ekspressioon: 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 oktapeptiid, glütsiinilinker, neomütsiin, fosfotransferaas**Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Post-Thaw Recovery** Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega  $5 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup> ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

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

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Veenduge, et vialid jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude tervikluse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja kohe kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialid kiiresti, kastes selle  $37^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialid ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärseid katsetulemusi.

**Incubation Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Freezing Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## HK EGFP-Cap-D2 rakud | 300675

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.