

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

## Yleisiä tietoja

## Description

HK EGFP-Cap-D2 -solulinja on HeLa Kyoto -solujen muunneltu versio, joka on suunniteltu erityisesti solubiologian ja geenitekniiikan kehittyneeseen tutkimukseen. Tämä solulinja ilmentää tehostettua vihreää fluoresoivaa proteiinia (EGFP), joka on fuusioitu D2-dopamiinireseptorin C-terminaaliin, mikä mahdollistaa reseptorin dynamiikan ja jakautumisen visualisoinnin reaaliaikaisesti fluoresenssimikroskopiassa. Tämä ominaisuus on erityisen hyödyllinen tutkittaessa reseptorien liikkumista, signaalireittejä ja farmakologisten aineiden vaikutuksia D2-reseptorin käyttäytymiseen.

Näitä soluja käytetään laajalti neurologisessa tutkimuksessa, jotta voitaisiin ymmärtää paremmin dopamiinin signaloinnin taustalla olevia mekanismeja, jotka ovat ratkaisevia monissa neurologisissa sairauksissa, kuten Parkinsonin taudissa, skitsofreniassa ja masennuksessa. EGFP:n fuusio D2-reseptoriin ei vaikuta reseptorin normaaliin toimintaan tai sen solulokalisoitumiseen, mikä tekee HK EGFP-Cap-D2:sta arvokkaan välineen fysiologisiin ja patologistiin tutkimuksiin. EGFP:n vakaa ilmentyminen mahdollistaa myös pitkittäistutkimukset elävissä soluissa, mikä antaa tietoa reseptorin säätelyn dynaamisista prosesseista ja vuorovaikutuksesta muiden solukomponenttien kanssa.

## Organism

Ihminen

## Tissue

Kohdunkaula

## Disease

Syöpä

## Synonyms

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

## Ominaisuudet

## Age

30 vuotta

## Gender

Nainen

## Ethnicity

Afroamerikkalainen

## Morphology

Epiteelin kaltaiset solut, joilla on mosaiikkimaisen kiven muotoinen rakenne

## Growth properties

Yksikerroksinen, tarttuva

## Säätelytiedot

## Citation

HK EGFP-Cap-D2 (Cytionin luettelonumero 300675)

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

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1D60**Depositor** Ellenbergin laboratorio (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Tämä HeLa Kyoto -linja sisältää EGFP-Cap-D2-rakenteen, joka mahdollistaa kondensiini-II:n dynamiikan tutkimisen elävissä soluissa. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.**Biomolekyylitiedot****Protein expression** EGFP-CAP-D2, noin 80 prosentissa soluista on ilmentymää: 619..645 / Flag-tag, 646..660, 1375..1389/null, 661..1374 / EGFP, 1435..5638/CAP-D2, 6886..7680/KanR/NeoR**Products** CMV Promotor, FLAG-oktapeptidi, glysiinilinkkeri, neomysiini, fosfotransferaasi**Käsittely****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  solua/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Post-Thaw Recovery** Sulattamisen jälkeen levitä solut  $5 \times 10^4$  solua/cm<sup>2</sup> ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

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

**Freeze medium**

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

**Flask Coating**

Ei mitään

**Freezing Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

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

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.