

**Cellules HK EGFP-Cap-D2 | 300675****Informations générales****Description**

La lignée cellulaire HK EGFP-Cap-D2 est une variante des cellules HeLa Kyoto, spécialement conçue pour la recherche avancée en biologie cellulaire et en génie génétique. Cette lignée cellulaire exprime une protéine fluorescente verte améliorée (EGFP) fusionnée à l'extrémité C-terminale du récepteur dopaminergique D2, ce qui permet de visualiser la dynamique et la distribution des récepteurs en temps réel au microscope à fluorescence. Cette caractéristique est particulièrement utile pour étudier le trafic des récepteurs, les voies de signalisation et les effets des agents pharmacologiques sur le comportement des récepteurs D2.

Ces cellules sont largement utilisées dans la recherche neurologique pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents à la signalisation de la dopamine, qui est cruciale dans de nombreux troubles neurologiques tels que la maladie de Parkinson, la schizophrénie et la dépression. La fusion de l'EGFP au récepteur D2 n'affecte pas la fonction normale du récepteur ni sa localisation cellulaire, ce qui fait de HK EGFP-Cap-D2 un outil précieux pour les études physiologiques et pathologiques. L'expression stable de l'EGFP permet également des études longitudinales dans des cellules vivantes, ce qui donne un aperçu des processus dynamiques de régulation du récepteur et de son interaction avec d'autres composants cellulaires.

**Organism** Humain**Tissue** Col de l'utérus**Disease** Carcinome**Synonyms** HeLa Kyoto EGFP CAP-D2, HeLa Kyoto Cap-D2 EGFP**Caractéristiques****Age** 30 ans**Gender** Femme**Ethnicity** Afro-américain**Morphology** Cellules de type épithélial avec une forme de pierre en mosaïque**Growth properties** Monocouche, adhérente**Données réglementaires****Citation** HK EGFP-Cap-D2 (numéro de catalogue Cytion 300675)

**Cellules HK EGFP-Cap-D2 | 300675****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1D60**Depositor** Le laboratoire Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1 : cette lignée HeLa Kyoto contient une construction EGFP-Cap-D2 permettant d'étudier la dynamique de la condensine II sur des cellules vivantes. Cette classification s'applique uniquement en Allemagne et peut différer ailleurs.**Données biomoléculaires****Protein expression** EGFP-CAP-D2, Environ 80% des cellules montrent une expression : Localisation/Gène : 1..589 / Pcmv, 619..645 / Flag-tag, 646..660, 1375..1389/null, 661..1374 / EGFP, 1435..5638/CAP-D2, 6886..7680/KanR/NeoR**Products** Promoteur CMV, octapeptide FLAG, linker Glycine, Néomycine, Phosphotransférase**Manipulation****Culture Medium** DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.**Split ratio** Un rapport de 1:3 est recommandé**Seeding density**  $1 \times 10^4$  cellules/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine

## Cellules HK EGFP-Cap-D2 | 300675

### Post-Thaw Recovery

Après décongélation, ensemercer les cellules à raison de  $5 \times 10^4$  cellules/cm<sup>2</sup> et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.

### Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, atmosphère humidifiée.

### Flask Coating

Aucun

## Cellules HK EGFP-Cap-D2 | 300675

### Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

### Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

### Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

## Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

### Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.