

Sel HK EGFP-Cap-D2 | 300675

Informasi umum

Description

Garis sel HK EGFP-Cap-D2 adalah varian yang direkayasa dari sel HeLa Kyoto, yang dirancang khusus untuk penelitian lanjutan dalam biologi seluler dan rekayasa genetika. Garis sel ini mengekspresikan protein fluoresen hijau yang disempurnakan (EGFP) yang menyatu dengan ujung-C reseptor dopamin D2, memungkinkan visualisasi dinamika dan distribusi reseptor secara real-time di bawah mikroskop fluoresensi. Fitur ini sangat bermanfaat untuk mempelajari perdagangan reseptor, jalur pensinyalan, dan efek agen farmakologis pada perilaku reseptor D2.

Sel-sel ini digunakan secara luas dalam penelitian neurologis untuk memahami lebih baik mekanisme yang mendasari pensinyalan dopamin, yang sangat penting dalam banyak gangguan neurologis seperti penyakit Parkinson, skizofrenia, dan depresi. Perpaduan EGFP ke reseptor D2 tidak mempengaruhi fungsi normal reseptor atau lokalisasi selulernya, menjadikan HK EGFP-Cap-D2 sebagai alat yang berharga untuk studi fisiologis dan patologis. Ekspresi EGFP yang stabil juga memungkinkan untuk studi longitudinal dalam sel hidup, memberikan wawasan tentang proses dinamis regulasi reseptor dan interaksi dengan komponen seluler lainnya.

Organism Manusia

Tissue Serviks

Disease Karsinoma

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

Karakteristik

Age 30 tahun

Gender Perempuan

Ethnicity Afrika-Amerika

Morphology Sel mirip epitel dengan bentuk batu mosaik

Growth properties Monolayer, patuh

Data Peraturan

Citation HK EGFP-Cap-D2 (nomor katalog Cytion 300675)

Sel HK EGFP-Cap-D2 | 300675**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D60**Depositor** Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Garis sel HeLa Kyoto ini mengandung konstruksi EGFP-Cap-D2 yang memungkinkan studi sel hidup tentang dinamika kondensin-II. Klasifikasi ini berlaku hanya di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.**Data Biomolekuler****Protein expression** EGFP-CAP-D2, Sekitar 80% sel menunjukkan ekspresi: Lokasi / Gen: 1..589 / Pcmv, 619..645 / Flag-tag, 646..660, 1375..1389 / nol, 661..1374 / EGFP, 1435..5638 / CAP-D2, 6886..7680 / KanR / NeoR**Products** Promotor CMV, BENDERA oktapeptida, Penghubung glisin, Neomisin, Fosfotransferase**Penanganan****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)**Supplements** Tambahkan media dengan 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.**Seeding density** 1×10^4 sel/cm²**Fluid renewal** 2 hingga 3 kali per minggu**Post-Thaw Recovery** Setelah dicairkan, tanam sel pada kepadatan 5×10^4 sel/cm² dan biarkan sel pulih dari proses pembekuan serta menempel setidaknya selama 24 jam.

Sel HK EGFP-Cap-D2 | 300675

Freeze medium

Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $300 \times g$ selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

Flask Coating

Tidak ada

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel HK EGFP-Cap-D2 | 300675

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196°C . Penyimpanan pada suhu -80°C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.