

Cellule HK EGFP-Cap-D2 | 300675**Informazioni generali****Description**

La linea cellulare HK EGFP-Cap-D2 è una variante ingegnerizzata delle cellule HeLa Kyoto, progettata specificamente per la ricerca avanzata in biologia cellulare e ingegneria genetica. Questa linea cellulare esprime una proteina fluorescente verde potenziata (EGFP) fusa al C-terminus del recettore della dopamina D2, consentendo la visualizzazione della dinamica e della distribuzione del recettore in tempo reale al microscopio a fluorescenza. Questa caratteristica è particolarmente utile per studiare il traffico dei recettori, le vie di segnalazione e gli effetti degli agenti farmacologici sul comportamento dei recettori D2.

Queste cellule sono ampiamente utilizzate nella ricerca neurologica per comprendere meglio i meccanismi alla base della segnalazione della dopamina, che è cruciale in molti disturbi neurologici come il morbo di Parkinson, la schizofrenia e la depressione. La fusione di EGFP al recettore D2 non influisce sulla normale funzione del recettore o sulla sua localizzazione cellulare, rendendo HK EGFP-Cap-D2 uno strumento prezioso per studi fisiologici e patologici. L'espressione stabile di EGFP consente anche studi longitudinali in cellule vive, fornendo approfondimenti sui processi dinamici di regolazione del recettore e sull'interazione con altri componenti cellulari.

Organism Umano**Tissue** Cervice**Disease** Carcinoma**Synonyms** HeLa Kyoto EGFP CAP-D2, HeLa Kyoto Cap-D2 EGFP**Caratteristiche****Age** 30 anni**Gender** Donna**Ethnicity** Afroamericano**Morphology** Cellule simili a quelle epiteliali con forma di pietra a mosaico**Growth properties** Monostrato, aderente**Dati normativi****Citation** HK EGFP-Cap-D2 (numero di catalogo Cytion 300675)

Cellule HK EGFP-Cap-D2 | 300675

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D60
Depositor	Il laboratorio Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: questa linea HeLa Kyoto contiene un costrutto EGFP-Cap-D2 che consente studi su cellule vive delle dinamiche della condensina II. Questa classificazione è valida solo in Germania e può differire in altri paesi.

Dati biomolecolari

Protein expression EGFP-CAP-D2, circa l'80% delle cellule mostra espressione: Posizione/Gene: 1..589 / Pcmv, 619..645 / Flag-tag, 646..660, 1375..1389/null, 661..1374 / EGFP, 1435..5638/CAP-D2, 6886..7680/KanR/NeoR

Products Promotore CMV, ottapeptide FLAG, linker glicina, neomicina, fosfotransferasi

Manipolazione

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutamina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)

Supplements Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Split ratio Si raccomanda un rapporto di 1:3

Seeding density 1×10^4 cellule/cm²

Fluid renewal da 2 a 3 volte alla settimana

Cellule HK EGFP-Cap-D2 | 300675

Post-Thaw Recovery

Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5×10^4 cellule/cm² e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Cellule HK EGFP-Cap-D2 | 300675

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.