Product sheet

HK EGFP-Cap-D2 ląstelės | 300675

Bendra informacija

Description	HK EGFP-Cap-D2 ląstelių linija yra modifikuotas Hela Kyoto ląstelių variantas, specialiai sukurtas pažangiems ląstelių biologijos ir genų inžinerijos tyrimams. Ši ląstelių linija ekspresuoja sustiprintą žaliąjį fluorescencinį baltymą (EGFP), sujungtą su D2 dopamino receptoriaus C galu, todėl galima vizualizuoti receptorių dinamiką ir pasiskirstymą realiuoju laiku fluorescenciniu mikroskopu. Ši savybė ypač naudinga tiriant receptorių judėjimą, signalinius kelius ir farmakologinių medžiagų poveikį D2 receptorių elgsenai. Šios ląstelės plačiai naudojamos neurologiniuose tyrimuose, siekiant geriau suprasti mechanizmus, kuriais grindžiamas dopamino signalizavimas, turintis lemiamą reikšmę daugeliui neurologinių sutrikimų, tokių kaip Parkinsono liga, šizofrenija ir depresija. EGFP susiliejimas su D2 receptoriumi neturi įtakos normaliai receptoriaus funkcijai ar jo lokalizacijai ląstelėse, todėl HK EGFP-Cap-D2 yra vertinga priemonė fiziologiniams ir patologiniams tyrimams. Stabili EGFP raiška taip pat leidžia atlikti ilgalaikius tyrimus gyvose ląstelėse, leidžiančius įžvelgti dinamiškus receptorių reguliavimo ir sąveikos su kitais ląstelės komponentais procesus.
Organism	Žmogus
Tissue	Gimdos kaklelis
Disease	Karcinoma
Synonyms	HeLa Kyoto EGFP CAP-D2, HeLa Kyoto Cap-D2 EGFP

Charakteristikos

Age	30 metų
Gender	Moteris
Ethnicity	Afroamerikietis
Morphology	Į epitelį panašios ląstelės su mozaikos formos akmenukais
Growth properties	Viensluoksnis, prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	HK EGFP-Cap-D2 (Cytion katalogo numeris 300675)
Biosafety level	1

HK EGFP-Cap-D2 ląstelės | 300675

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D60
Depositor	Ellenbergo laboratorija (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Ši HeLa Kyoto linija turi EGFP-Cap-D2 konstruktą, leidžiantį tirti kondensino II dinamiką gyvose ląstelėse. Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression	EGFP-CAP-D2, apie 80 % ląstelių turi raišką: 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 oktapeptidas, glicino ryšys, neomicinas, fosfotransferazė

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO3, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Seeding density	1 x 10^4 ląstelės/cm^2
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Post-Thaw Recovery	Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5 x 10^4 ląstelių/cm^2 tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

HK EGFP-Cap-D2 ląstelės | 300675

Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.
Thawing and Culturing Cells	1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra. 2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti. 3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis. 4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu. 5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite. 6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais. 7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą. 8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra
Freezing Procedure	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HK EGFP-Cap-D2 ląstelės | 300675

Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.