

HK EGFP-Cap-D2 šūnas | 300675

Vispārīga informācija

Description

HK EGFP-Cap-D2 šūnu līnija ir HeLa Kyoto šūnu modificēts variants, kas īpaši izstrādāts progresīviem pētījumiem šūnu bioloģijā un gēnu inženierijā. Šī šūnu līnija ekspresē pastiprinātu zaļo fluorescējošo proteīnu (EGFP), kas sapludināts ar D2 dopamīna receptora C-galu, ļaujot vizualizēt receptora dinamiku un izplatību reāllaikā fluorescences mikroskopijā. Šī īpašība ir īpaši noderīga, pētot receptora apriti, signalizācijas ceļus un farmakoloģisko līdzekļu ietekmi uz D2 receptora uzvedību.

Šīs šūnas tiek plaši izmantotas neiroloģiskajos pētījumos, lai labāk izprastu mehānismus, kas ir dopamīna signalizācijas pamatā, kas ir būtiski daudzu neiroloģisku traucējumu, piemēram, Parkinsona slimības, šizofrēnijas un depresijas, gadījumā. EGFP saplūšana ar D2 receptora neietekmē receptora normālo funkciju vai tā lokalizāciju šūnās, padarot HK EGFP-Cap-D2 par vērtīgu instrumentu fizioloģiskiem un patoloģiskiem pētījumiem. Stabila EGFP ekspresija ļauj veikt arī ilgstošus pētījumus dzīvās šūnās, sniedzot ieskatu dinamiskajos receptora regulācijas procesos un mijiedarbībā ar citiem šūnu komponentiem.

Organism

Cilvēks

Tissue

Dzemdē kakls

Disease

Karcinoma

Synonyms

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

Raksturojums

Age

30 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Afroamerikānis

Morphology

Epitēlijveidīgas šūnas ar mozaikveida akmens formu

Growth properties

Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

Citation

HK EGFP-Cap-D2 (Cytion kataloga numurs 300675)

Biosafety level

1

HK EGFP-Cap-D2 šūnas | 300675

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D60
Depositor	Ellenberga laboratorija (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Šī HeLa Kyoto līnija satur EGFP-Cap-D2 konstrukciju, kas ļauj veikt dzīvo šūnu pētījumus par kondensāna II dinamiku. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Protein expression	EGFP-CAP-D2, aptuveni 80 % šūnu ir izteiktas: Atrašanās vieta/gēns: 1..589 / Pcmv, 619..645 / Flag-tag, 646..660, 1375..1389/null, 661..1374 / EGFP, 1435..5638/CAP-D2, 6886..7680/KanR/NeoR
---------------------------	--

Products CMV Promotors, FLAG oktapeptīds, glicīna saistviela, neomicīns, fosfotransferāze

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
-----------------------	---

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Seeding density	1 x 10 ⁴ šūnas/cm ²
------------------------	---

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5 x 10 ⁴ šūnas/cm ² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.
---------------------------	--

HK EGFP-Cap-D2 šūnas | 300675**Freeze medium**

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HK EGFP-Cap-D2 šūnas | 300675

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.