Product sheet

HK EGFP-Cap-D2-celler | 300675

Generell informasjon

Description	HK EGFP-Cap-D2-cellelinjen er en konstruert variant av Hela Kyoto-celler, spesielt utviklet for avansert forskning innen cellebiologi og genteknologi. Denne cellelinjen uttrykker forsterket grønt fluorescerende protein (EGFP) som er fusjonert til C-terminalen av D2-dopaminreseptoren, noe som muliggjør visualisering av reseptordynamikk og -distribusjon i sanntid under fluorescensmikroskopi. Denne egenskapen er spesielt gunstig for studier av reseptorhandel, signalveier og effekten av farmakologiske midler på D2-reseptorens atferd. Disse cellene brukes i stor utstrekning i nevrologisk forskning for å få en bedre forståelse av mekanismene som ligger til grunn for dopaminsignalering, som er avgjørende for mange nevrologiske lidelser som Parkinsons sykdom, schizofreni og depresjon. Fusjonen av EGFP til D2-reseptoren påvirker ikke reseptorens normale funksjon eller dens cellulære lokalisering, noe som gjør HK EGFP-Cap-D2 til et verdifullt verktøy for fysiologiske og patologiske studier. Det stabile uttrykket av EGFP muliggjør også longitudinelle studier i levende celler, noe som gir innsikt i de dynamiske prosessene i reseptorregulering og interaksjon med andre cellulære komponenter.
Organism	Menneskelig
Tissue	Livmorhalsen
Disease	Karsinom
Synonyms	HeLa Kyoto EGFP CAP-D2, HeLa Kyoto Cap-D2 EGFP

Kjennetegn

Age	30 år
Gender	Kvinne
Ethnicity	Afroamerikaner
Morphology	Epitel-lignende celler med mosaikksteinform
Growth properties	Monolag, vedheftende

Regulatoriske data

Citation	HK EGFP-Cap-D2 (Cytion katalognummer 300675)

Product sheet

HK EGFP-Cap-D2-celler | 300675

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D60
Depositor	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linjen inneholder en EGFP-Cap-D2-konstruksjon som muliggjør levende celleundersøkelser av kondensin-II-dynamikk. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Protein expression	EGFP-CAP-D2, Omtrent 80 % av cellene viser uttrykk: Lokasjon/Gen: 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-promotor, FLAG-oktapeptid, glycin-linker, neomycin, fosfotransferase

Håndtering

Culture Medium	DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO3, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:3 anbefales
Seeding density	1 x 10^4 celler/cm^2
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke

HK EGFP-Cap-D2-celler | 300675

Post-Thaw Recovery	Etter tining, plasser cellene på 5 x 10^4 celler/cm^2 og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, befuktet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Storage Conditions	For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility	Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma. For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.