

Komórki HK EGFP-Cap-D2 | 300675**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa HK EGFP-Cap-D2 to zmodyfikowany wariant komórek HeLa Kyoto, zaprojektowany specjalnie do zaawansowanych badań w dziedzinie biologii komórkowej i inżynierii genetycznej. Ta linia komórkowa wyraża wzmocnione zielone białko fluorescencyjne (EGFP) połączone z C-końcem receptora dopaminy D2, umożliwiając wizualizację dynamiki i dystrybucji receptora w czasie rzeczywistym pod mikroskopem fluorescencyjnym. Ta cecha jest szczególnie korzystna do badania ruchu receptorów, szlaków sygnałowych i wpływu środków farmakologicznych na zachowanie receptora D2.

Komórki te są szeroko stosowane w badaniach neurologicznych w celu lepszego zrozumienia mechanizmów leżących u podstaw sygnalizacji dopaminowej, która ma kluczowe znaczenie w wielu zaburzeniach neurologicznych, takich jak choroba Parkinsona, schizofrenia i depresja. Fuzja EGFP z receptorem D2 nie wpływa na normalną funkcję receptora ani jego lokalizację komórkową, dzięki czemu HK EGFP-Cap-D2 jest cennym narzędziem do badań fizjologicznych i patologicznych. Stabilna ekspresja EGFP pozwala również na badania podłożne w żywych komórkach, zapewniając wgląd w dynamiczne procesy regulacji receptora i interakcji z innymi składnikami komórkowymi.

Organism

Człowiek

Tissue

Szyjka macicy

Disease

Rak

Synonyms

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

Charakterystyka**Age**

30 lat

Gender

Kobieta

Ethnicity

Afroamerykanin

Morphology

Komórki podobne do nabłonka o mozaikowym kształcie kamienia

Growth properties

Monowarstwa, przylegająca

Dane regulacyjne**Citation**

HK EGFP-Cap-D2 (numer katalogowy Cytion 300675)

Komórki HK EGFP-Cap-D2 | 300675

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1D60

Depositor Laboratorium Ellenberg (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Ta linia HeLa Kyoto zawiera konstrukt EGFP-Cap-D2 umożliwiający badania dynamiki kondensyny II w żywych komórkach. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie w Niemczech i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne

Protein expression EGFP-CAP-D2, około 80% komórek wykazuje ekspresję: Lokalizacja/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 Promotor CMV, oktapeptyd FLAG, łącznik glicynowy, neomycyna, fosfotransferaza

Obsługa

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)

Supplements Uzupelnic podloze 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Usun starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio Zalecany jest stosunek 1:3

Seeding density 1×10^4 kom^{órek}/cm²

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Komórki HK EGFP-Cap-D2 | 300675**Post-Thaw Recovery**

Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć do podłoża.

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki HK EGFP-Cap-D2 | 300675

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.