

Células HK EGFP-Cap-D2 | 300675**Informações gerais****Description**

A linha celular HK EGFP-Cap-D2 é uma variante modificada das células HeLa Kyoto, especificamente concebida para investigação avançada em biologia celular e engenharia genética. Esta linha celular exprime uma proteína verde fluorescente melhorada (EGFP) fundida com o terminal C do recetor de dopamina D2, permitindo a visualização da dinâmica e distribuição do recetor em tempo real sob microscopia de fluorescência. Esta característica é particularmente benéfica para o estudo do tráfico de receptores, das vias de sinalização e dos efeitos de agentes farmacológicos no comportamento do recetor D2.

Estas células são amplamente utilizadas na investigação neurológica para compreender melhor os mecanismos subjacentes à sinalização da dopamina, que é crucial em muitas perturbações neurológicas, como a doença de Parkinson, a esquizofrenia e a depressão. A fusão da EGFP com o recetor D2 não afecta a função normal do recetor nem a sua localização celular, o que faz da HK EGFP-Cap-D2 uma ferramenta valiosa para estudos fisiológicos e patológicos. A expressão estável de EGFP também permite estudos longitudinais em células vivas, fornecendo informações sobre os processos dinâmicos de regulação do recetor e interação com outros componentes celulares.

Organism Humano**Tissue** Colo do útero**Disease** Carcinoma**Synonyms** HeLa Kyoto EGFP CAP-D2, HeLa Kyoto Cap-D2 EGFP**Caraterísticas****Age** 30 anos**Gender** Feminino**Ethnicity** Afro-americano**Morphology** Células de tipo epitelial com forma de pedra em mosaico**Growth properties** Monocamada, aderente**Dados regulamentares****Citation** HK EGFP-Cap-D2 (número de catálogo Cytion 300675)

Células HK EGFP-Cap-D2 | 300675

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1D60

Depositor O Laboratório Ellenberg (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Esta linha HeLa Kyoto contém uma construção EGFP-Cap-D2 que permite estudos em células vivas da dinâmica da condensina II. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode ser diferente noutros países.

Dados biomoleculares

Protein expression EGFP-CAP-D2, Cerca de 80% das células apresentam expressão: Localização/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 Promotor do CMV, octapeptídeo FLAG, ligante de glicina, neomicina, fosfotransferase

Manuseamento

Culture Medium DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Seeding density 1×10^4 células/cm²

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Post-Thaw Recovery Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

Células HK EGFP-Cap-D2 | 300675

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Células HK EGFP-Cap-D2 | 300675

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.