

## Celule HK EGFP-Cap-D2 | 300675

## Informații generale

## Description

Linia celulară HK EGFP-Cap-D2 este o variantă modificată a celulelor HeLa Kyoto, concepută special pentru cercetarea avansată în biologie celulară și inginerie genetică. Această linie celulară exprimă proteina fluorescentă verde îmbunătățită (EGFP) fuzionată cu C-terminalul receptorului de dopamină D2, permițând vizualizarea dinamicii și distribuției receptorului în timp real prin microscopie cu fluorescență. Această caracteristică este deosebit de benefică pentru studierea traficului receptorilor, a căilor de semnalizare și a efectelor agenților farmacologici asupra comportamentului receptorilor D2.

Aceste celule sunt utilizate pe scară largă în cercetarea neurologică pentru a înțelege mai bine mecanismele care stau la baza semnalizării dopaminei, care este esențială în multe tulburări neurologice, cum ar fi boala Parkinson, schizofrenia și depresia. Fuziunea EGFP cu receptorul D2 nu afectează funcția normală a receptorului sau localizarea sa celulară, făcând din HK EGFP-Cap-D2 un instrument valoros pentru studiile fiziologice și patologice. Expresia stabilă a EGFP permite, de asemenea, studii longitudinale în celule vii, oferind perspective asupra proceselor dinamice de reglare a receptorului și interacțiune cu alte componente celulare.

**Organism** Om

**Tissue** Cervix

**Disease** Carcinom

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

## Caracteristici

**Age** 30 de ani

**Gender** Femei

**Ethnicity** African american

**Morphology** Celule de tip epitelial cu formă de piatră mozaicată

**Growth properties** Monostrat, aderent

## Date de reglementare

**Citation** HK EGFP-Cap-D2 (număr de catalog Cytion 300675)

**Biosafety level** 1

## Celule HK EGFP-Cap-D2 | 300675

**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1D60**Depositor** Laboratorul Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Această linie HeLa Kyoto conține o construcție EGFP-Cap-D2 care permite studierea dinamicii condensinei II în celule vii. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.

## Date biomoleculare

**Protein expression** EGFP-CAP-D2, aproximativ 80% din celule prezintă expresie: Locație/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 CMV, octapeptidă FLAG, linker glicină, neomicină, fosfotransferază

## Manipulare

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  celule/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** de 2 până la 3 ori pe săptămână**Post-Thaw Recovery** După decongelare, plasați celulele la  $5 \times 10^4$  celule/cm<sup>2</sup> și lăsați-le să se recupereze după procesul de congelare și să adere timp de cel puțin 24 de ore.

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

Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

**Incubation Atmosphere**

37°C, 5%<sub>CO2</sub>, atmosferă umidificată.

**Flask Coating**

Niciuna

**Freezing Procedure**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

## Celule HK EGFP-Cap-D2 | 300675

### Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

### Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

## Controlul calității / Profil genetic / HLA

### Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.