

HK EGFP-Cap-D2-celler | 300675

Allmän information

Description

HK EGFP-Cap-D2-cellinjen är en konstruerad variant av Hela Kyoto-celler, speciellt utformad för avancerad forskning inom cellbiologi och genteknik. Denna cellinje uttrycker förstärkt grönt fluorescerande protein (EGFP) som är fusionerat till C-terminalen av D2-dopaminreceptorn, vilket möjliggör visualisering av receptordynamik och distribution i realtid under fluorescensmikroskopi. Denna egenskap är särskilt fördelaktig för studier av receptorhandel, signalvägar och effekterna av farmakologiska medel på D2-receptors beteende.

Dessa celler används i stor utsträckning inom neurologisk forskning för att bättre förstå de mekanismer som ligger bakom dopaminsignaler, som är avgörande för många neurologiska sjukdomar som Parkinsons sjukdom, schizofreni och depression. Fusionen av EGFP till D2-receptorn påverkar inte receptorns normala funktion eller dess cellulära lokalisering, vilket gör HK EGFP-Cap-D2 till ett värdefullt verktyg för fysiologiska och patologiska studier. Det stabila uttrycket av EGFP möjliggör också longitudinella studier i levande celler, vilket ger insikter i de dynamiska processerna för receptorreglering och interaktion med andra cellulära komponenter.

Organism Människan

Tissue Cervix

Disease Carcinom

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

Egenskaper

Age 30 år

Gender Kvinna

Ethnicity Afroamerikan

Morphology Epitelliknande celler med mosaikstensform

Growth properties Monolager, vidhäftande

Lagstadgade uppgifter

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

Biosafety level 1

HK EGFP-Cap-D2-celler | 300675

| | |
|-----------------------------|--|
| NCBI_TaxID | 9606 |
| CellosaurusAccession | CVCL_1D60 |
| Depositor | Ellenberg-laboratoriet (EMBL) |
| GMO Status | GMO-S1: Denna HeLa Kyoto-linje innehåller en EGFP-Cap-D2-konstruktion som möjliggör studier av kondensin-II-dynamiken i levande celler. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt i andra länder. |

Biomolekylära data

Protein expression EGFP-CAP-D2, Cirka 80% av cellerna visar uttryck: Plats/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, Fosfotransferas

Hantering

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements Komplettera mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Split ratio Ett förhållande på 1:3 rekommenderas

Seeding density 1×10^4 celler/cm²

Fluid renewal 2 till 3 gånger per vecka

Post-Thaw Recovery Efter upptining, plattlägg cellerna med 5×10^4 celler/cm² och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 24 timmar.

HK EGFP-Cap-D2-celler | 300675

Freeze medium

Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeskuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

HK EGFP-Cap-D2-celler | 300675

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.