

Bunky HK EGFP-Cap-D2 | 300675**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia HK EGFP-Cap-D2 je upravený variant buniek Hela Kyoto, špeciálne navrhnutý na pokročilý výskum v oblasti bunkovej biológie a genetického inžinierstva. Táto bunková línia exprimuje rozšírený zelený fluorescenčný proteín (EGFP) spojený s C-koncom dopamínového receptora D2, čo umožňuje vizualizáciu dynamiky a distribúcie receptora v reálnom čase pod fluorescenčným mikroskopom. Táto funkcia je obzvlášť výhodná pri štúdiu obchodovania s receptormi, signálnych dráh a účinkov farmakologických látok na správanie receptorov D2.

Tieto bunky sa vo veľkej miere využívajú v neurologickom výskume na lepšie pochopenie mechanizmov, ktoré sú základom dopamínovej signalizácie, ktorá je kľúčová pri mnohých neurologických poruchách, ako je Parkinsonova choroba, schizofrénia a depresia. Fúzia EGFP s D2 receptorom neovplyvňuje normálnu funkciu receptora ani jeho bunkovú lokalizáciu, vďaka čomu je HK EGFP-Cap-D2 cenným nástrojom na fyziologické a patologické štúdie. Stabilná expresia EGFP umožňuje aj dlhodobé štúdie v živých bunkách, čo umožňuje nahliadnuť do dynamických procesov regulácie receptora a interakcie s inými bunkovými zložkami.

Organism Ľudské**Tissue** Cervix**Disease** Karcinóm**Synonyms** HeLa Kyoto EGFP CAP-D2, HeLa Kyoto Cap-D2 EGFP**Charakteristika****Age** 30 rokov**Gender** Ženy**Ethnicity** Afroameričan**Morphology** Epitelové bunky s mozaikovým tvarom kameňa**Growth properties** Monovrstva, priliehajúca**Regulačné údaje****Citation** HK EGFP-Cap-D2 (katalógové číslo Cytion 300675)**Biosafety level** 1

Bunky HK EGFP-Cap-D2 | 300675**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D60**Depositor** Ellenbergova laboratória (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Táto línia HeLa Kyoto obsahuje konštrukt EGFP-Cap-D2, ktorý umožňuje štúdium dynamiky kondenzínu II v živých bunkách. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.**Biomolekulárne údaje****Protein expression** EGFP-CAP-D2, približne 80 % buniek vykazuje expresiu: Umiestnenie/gén: 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, glycinový linker, neomycín, fosfotransferáza**Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Seeding density** 1×10^4 buniek/cm²**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5×10^4 buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

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

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky HK EGFP-Cap-D2 | 300675

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.