Product sheet

HK celice EGFP-Cap-D2 | 300675

Splošne informacije

Description	Celična linija HK EGFP-Cap-D2 je predelana različica celic Hela Kyoto, posebej zasnovana za napredne raziskave na področju celične biologije in genskega inženiringa. Ta celična linija izraža izboljšan zeleni fluorescenčni protein (EGFP), ki je spojen s koncem C dopaminskega receptorja D2, kar omogoča vizualizacijo dinamike in porazdelitve receptorja v realnem času pod fluorescenčnim mikroskopom. Ta lastnost je še posebej koristna za preučevanje prometa z receptorji, signalnih poti in učinkov farmakoloških sredstev na obnašanje receptorjev D2. Te celice se pogosto uporabljajo v nevroloških raziskavah, da bi bolje razumeli mehanizme, na katerih temelji dopaminska signalizacija, ki je ključna pri številnih nevroloških motnjah, kot so Parkinsonova bolezen, shizofrenija in depresija. Fuzija EGFP z receptorjem D2 ne vpliva na normalno delovanje receptorja ali njegovo celično lokalizacijo, zato je HK EGFP-Cap-D2 dragoceno orodje za fiziološke in patološke študije. Stabilno izražanje EGFP omogoča tudi longitudinalne študije v živih celicah, kar omogoča vpogled v dinamične procese regulacije receptorja in interakcije z drugimi celičnimi komponentami.
Organism	Človek
Tissue	Maternični vrat
Disease	Karcinom
Synonyms	HeLa Kyoto EGFP CAP-D2, HeLa Kyoto Cap-D2 EGFP

Značilnosti

Age	30 let
Gender	Ženske
Ethnicity	Afroameričan
Morphology	Epitelnim celicam podobne celice z obliko mozaičnih kamenčkov
Growth properties	Enoslojni, adherentni

Regulativni podatki

Citation	HK EGFP-Cap-D2 (kataloška številka Cytion 300675)
Biosafety level	1

HK celice EGFP-Cap-D2 | 300675

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D60
Depositor	Laboratorij Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Ta linija HeLa Kyoto vsebuje konstrukt EGFP-Cap-D2, ki omogoča študije dinamike kondenzina II v živih celicah. Ta klasifikacija velja samo v Nemčiji in se lahko drugod razlikuje.

Biomolekularni podatki

Protein expression	EGFP-CAP-D2, približno 80 % celic je izraženih: 619..645 / Flag-tag, 646..660, 1375..1389/null, 661..1374 / EGFP, 1435..5638/CAP-D2, 6886..7680/KanR/NeoR
Products	Promotor CMV, oktapeptid FLAG, povezovalec glicina, neomicin, fosfotransferaza

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
Seeding density	1 x 10^4 celic/cm^2
Fluid renewal	2 do 3-krat na teden
Post-Thaw Recovery	Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5 x 10^4 cel^{ic}/cm^2 in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

HK celice EGFP-Cap-D2 | 300675

Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.
Thawing and Culturing Cells	1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature. 2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje. 3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica. 4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom. 5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte. 6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavrzite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča. 7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic. 8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, vlažno ozračje.
Flask Coating	Nič
Freezing Procedure	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

HK celice EGFP-Cap-D2 | 300675

Shipping Conditions	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.
Storage Conditions	Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility	Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence. Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.