

HK EGFP-Cap-D2 Hücreleri | 300675

Genel bilgi

Description

HK EGFP-Cap-D2 hücre hattı, HeLa Kyoto hücrelerinin, hücre biyolojisi ve genetik mühendisliğinde ileri araştırmalar için özel olarak tasarlanmış bir varyantıdır. Bu hücre hattı, D2 dopamin reseptörünün C-terminusuna kaynaşmış gelişmiş yeşil floresan proteini (EGFP) ifade ederek reseptör dinamiklerinin ve dağılımının floresan mikroskopu altında gerçek zamanlı olarak görselleştirilmesini sağlar. Bu özellik özellikle reseptör trafiğini, sinyal yollarını ve farmakolojik ajanların D2 reseptör davranışı üzerindeki etkilerini incelemek için faydalıdır.

Bu hücreler, Parkinson hastalığı, şizofreni ve depresyon gibi birçok nörolojik bozuklukta çok önemli olan dopamin sinyalinin altında yatan mekanizmaları daha iyi anlamak için nörolojik araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. EGFP'nin D2 reseptörüne füzyonu, reseptörün normal işlevini veya hücre lokalizasyonunu etkilemez, bu da HK EGFP-Cap-D2'yi fizyolojik ve patolojik çalışmalar için değerli bir araç haline getirir. EGFP'nin kararlı ifadesi, canlı hücrelerde uzunlamasına çalışmalara da izin vererek, reseptör düzenlemesinin dinamik süreçleri ve diğer hücre bileşenleriyle etkileşim hakkında içgörüler sağlar.

Organism

İnsan

Tissue

Serviks

Disease

Karsinom

Synonyms

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

Özellikler

Age

30 yıl

Gender

Kadın

Ethnicity

Afro-Amerikan

Morphology

Mozaik taş şekilli epitel benzeri hücreler

Growth properties

Tek katmanlı, yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation

HK EGFP-Cap-D2 (Cytion katalog numarası 300675)

Biosafety level

1

HK EGFP-Cap-D2 Hücreleri | 300675

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D60**Depositor** Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Bu HeLa Kyoto hattı, kondensin-II dinamiklerinin canlı hücre çalışmalarına olanak tanıyan bir EGFP-Cap-D2 yapısı içerir. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya içinde geçerlidir ve başka ülkelerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Protein expression EGFP-CAP-D2, Hücrelerin yaklaşık %80'i ekspresyon gösterir: Konum/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, Glisin bağlayıcı, Neomisin, Fosfotransferaz

Elleçleme

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Seeding density** 1×10^4 hücre/cm²**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**Post-Thaw Recovery** Çözüldükten sonra, hücreleri 5×10^4 hücre/cm² olarak plakaya yerleştirin ve hücrelerin dondurma işleminden kurtulmasını ve en az 24 saat boyunca yapışmasını bekleyin.

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

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyovialleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

HK EGFP-Cap-D2 Hücresleri | 300675

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.