

## Клітини НК EGFP-Cap-D2 | 300675

## Загальна інформація

## Description

Клітинна лінія НК EGFP-Cap-D2 - це інженерний варіант клітин HeLa Kyoto, спеціально розроблений для передових досліджень у галузі клітинної біології та генної інженерії. Ця клітинна лінія експресує посилений зелений флуоресцентний білок (EGFP), злитий з С-кінцем дофамінового рецептора D2, що дозволяє візуалізувати динаміку та розподіл рецептора в режимі реального часу за допомогою флуоресцентної мікроскопії. Ця особливість є особливо корисною для вивчення трафіку рецепторів, сигнальних шляхів і впливу фармакологічних агентів на поведінку D2-рецепторів.

Ці клітини широко використовуються в неврологічних дослідженнях для кращого розуміння механізмів, що лежать в основі дофамінової сигналізації, яка має вирішальне значення при багатьох неврологічних розладах, таких як хвороба Паркінсона, шизофренія та депресія. Злиття EGFP з рецептором D2 не впливає на нормальну функцію рецептора або його клітинну локалізацію, що робить НК EGFP-Cap-D2 цінним інструментом для фізіологічних і патологічних досліджень. Стабільна експресія EGFP також дозволяє проводити лонгітюдні дослідження на живих клітинах, що дає змогу вивчати динамічні процеси регуляції рецептора та його взаємодію з іншими клітинними компонентами.

**Organism** Людина

**Tissue** Шийка матки

**Disease** Карцинома

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

## Характеристики

**Age** 30 років

**Gender** Жінка

**Ethnicity** Афроамериканець

**Morphology** Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю

**Growth properties** Одношаровий, адгезійний

## Нормативні дані

**Citation** НК EGFP-Cap-D2 (номер за каталогом Cytion 300675)

## Клітини НК EGFP-Cap-D2 | 300675

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1D60**Depositor** Лабораторія Елленберга (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ця лінія HeLa Kyoto містить конструкцію EGFP-Cap-D2, що дозволяє проводити дослідження динаміки конденсину-II в живих клітинах. Ця класифікація застосовується тільки в Німеччині і може відрізнитися в інших країнах.

## Біомолекулярні дані

**Protein expression** EGFP-CAP-D2, експресується приблизно у 80% клітин: Розташування/ген: 1..589 / Pcmv, 619.645 / Flag-tag, 646.660, 1375.1389/null, 661.1374 / EGFP, 1435.5638/CAP-D2, 6886.7680/KanR/NeoR**Products** Промотор CMV, октапептид FLAG, гліциновий лінкер, неоміцин, фосфотрансфераза

## Обробка

**Culture Medium** ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS**Dissociation Reagent** Аккутаза**Subculturing** Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень

## Клітини НК EGFP-Cap-D2 | 300675

### Post-Thaw Recovery

Після розморожування висійте клітини з щільністю  $5 \times 10^4$  клітин/ $\text{cm}^2$  і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.

### Freeze medium

Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

### Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче  $-150^\circ\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^\circ\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

### Incubation Atmosphere

$37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

## Клітини НК EGFP-Cap-D2 | 300675

### Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

### Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно  $-78^{\circ}\text{C}$  під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно  $-78^{\circ}\text{C}$  під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від  $-150$  до  $-196^{\circ}\text{C}$ . Зберігання при  $-80^{\circ}\text{C}$  допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазموю виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.