

## 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 відрізнятись 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 криоконсервування 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.

**Flask Coating**

Hi

## Клітини НК EGFP-Cap-D2 | 300675

### Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °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 °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 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

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

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