Product sheet

Клітини HK EGFP-Cap-D2 | 300675

Загальна інформація

Description	Клітинна лінія HK 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 C-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 HK 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	HK EGFP-Cap-D2 (номер за каталогом Cytion 300675)

Клітини HK 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 відрізнятися 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 NaHCO3, 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	1×10^4 клітин/см2
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень

Клітини HK EGFP-Cap-D2 | 300675

Post-Thaw Recovery	Після розморожування висійте клітини з щільністю 5 x 10^4 клітин/^{см2} 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°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°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 x 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°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Клітини HK 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 перевіреній 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 перевіреній 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, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.