

Buňky NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP | 300986

Obecné informace

Description	Tato klonální stabilní buněčná linie byla vytvořena transfekcí cirkulárního plazmidu a rekombinací Flp s následnou selekcí na rezistenci k léčivům.
Organism	Člověk
Tissue	Děloha
Disease	Adenokarcinom
Metastatic site	Místo primárního nádoru (endocervix/děložní čípek)
Applications	Přestavba jaderné membrány; biologie receptoru laminu B (LBR); exprese genů indukovaná doxycyklinem; systém HeLa Kyoto FlpIn TREx; interakce mezi chromatinem a laminou; zobrazování živých buněk; studie podmíněného vyčerpání s využitím značení blízkosti zprostředkovaného NS3
Synonyms	HeLa R19 FlpIn TREx H2B-Cherry/NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP

Charakteristika

Age	30 let
Gender	Ženy
Ethnicity	Afroameričan
Morphology	Fibroblastům podobné
Cell type	Epitelové buňky
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP (katalogové číslo Cytion 300986)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

Buňky NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP | 300986**CellosaurusAccession** CVCL_UR51**GMO Status** GMO-S1: Tento derivát HeLa R19 FlpIn TREx obsahuje konstrukty integrované pomocí rekombinázy Flp, které kódují H2B-mCherry a doxycyklinem indukovatelný NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP, spolu s rezistenčním markerem G418. Tato klasifikace platí pouze v Německu a v jiných zemích se může lišit.**Biomolekulární data****Protein expression** H2B-mCherry a DOx indukovatelný NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP**Zpracování****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplněte médium 10% FBS, 0,5 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:3**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP | 300986

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP | 300986

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.