

NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP-celler | 300986

General information

Description	Denne klonale stabile cellelinje blev genereret ved transfektion af et cirkulært plasmid og ved FLP-rekombination efterfulgt af selektion af lægemiddelresistens.
Organism	Menneske
Tissue	Livmoder
Disease	Adenokarcinom
Metastatic site	Primær tumorlokalisering (endocervix/livmoderhalsen)
Applications	Omstrukturering af kernehinden; biologien bag lamin B-receptoren (LBR); doxycyklin-inducerbar genekspression; HeLa Kyoto FLPn TREx-systemet; interaktioner mellem kromatin og lamina; billedannelse af levende celler; undersøgelser af betinget nedbrydning ved hjælp af NS3-medieret nærhedsmærkning
Synonyms	HeLa R19 FLPn TREx H2B-Cherry/NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP

Karakteristika

Age	30 år
Gender	Kvinde
Ethnicity	Afroamerikaner
Morphology	Fibroblast-lignende
Cell type	Epitheliale celler
Growth properties	Vedhæftende

Regulatoriske data

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

NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP-celler | 300986**CellosaurusAccession** CVCL_UR51**GMO Status**

GMO-S1: Dette HeLa R19 FlpIn TReX-derivat indeholder Flp-rekombinase-integrerede konstruktioner, der koder for H2B-mCherry og doxycylin-inducerbar NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP, med G418-resistensmarkør. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.

Biomolekylære data**Protein expression**

H2B-mCherry og DOx-inducerbar NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP

Håndtering**Culture Medium**DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements**

Suppler mediet med 10% FBS, 0,5 mg/mL G418

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Split ratio

Det anbefales at bruge et forhold på 1:3

Fluid renewal

2 til 3 gange om ugen

Freeze medium

Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP-celler | 300986

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP-celler | 300986

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.