

Cellule NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP | 300986**Informazioni generali**

Description	Questa linea cellulare clonale stabile è stata generata mediante trasfezione di un plasmide circolare e ricombinazione FIp seguita da selezione della resistenza ai farmaci.
Organism	Umano
Tissue	Utero
Disease	Adenocarcinoma
Metastatic site	Sede del tumore primario (endocervice/cervice)
Applications	Rimodellamento dell'involucro nucleare; biologia del recettore della lamina B (LBR); espressione genica inducibile dalla doxiciclina; sistema FIpIn TREx di HeLa Kyoto; interazioni cromatina/lamina; imaging su cellule vive; studi sulla deplezione condizionale mediante marcatura di prossimità mediata da NS3
Synonyms	HeLa R19 FIpIn TREx H2B-Cherry/NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP

Caratteristiche

Age	30 anni
Gender	Donna
Ethnicity	Afroamericano
Morphology	Simile a un fibroblasto
Cell type	Cellule epiteliali
Growth properties	Aderente

Dati normativi

Citation	NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP (numero di catalogo Cytion 300986)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

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

GMO-S1: Questo derivato di HeLa R19 FlpIn TReX contiene costrutti integrati tramite la ricombinasi Flp che codificano per H2B-mCherry e NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP inducibile dalla doxiciclina, con marcatore di resistenza al G418. Questa classificazione è valida solo in Germania e potrebbe differire in altri paesi.

Dati biomolecolari**Protein expression**

H2B-mCherry e DOx inducibile NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP

Manipolazione**Culture Medium**DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)**Supplements**

Integrare il terreno di coltura con 10% FBS, 0,5 mg/mL G418

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Split ratio

Si raccomanda un rapporto di 1:3

Fluid renewal

da 2 a 3 volte alla settimana

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP | 300986

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP | 300986

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.