

NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP-cellen | 300986

Algemene informatie

Description	Deze klonale stabiele cellijn werd gegenereerd door transfectie van een circulair plasmide en door Flp-recombinatie gevolgd door selectie op resistentie tegen geneesmiddelen.
Organism	Mens
Tissue	Baarmoeder
Disease	Adenocarcinoom
Metastatic site	Locatie van de primaire tumor (endocervix/baarmoederhals)
Applications	Herstructurering van de kernmembraan; biologie van de lamin B-receptor (LBR); door doxycycline induceerbare genexpressie; het HeLa Kyoto FlpIn TReX-systeem; interacties tussen chromatine en lamina; beeldvorming van levende cellen; onderzoeken naar voorwaardelijke uitputting met behulp van NS3-gemedieerde nabijheidsmarkering
Synonyms	HeLa R19 FlpIn TReX H2B-Cherry/NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP

Kenmerken

Age	30 jaar
Gender	Vrouw
Ethnicity	Afro-Amerikaan
Morphology	Fibroblast-achtige
Cell type	Epitheelcellen
Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP (Cytion catalogusnummer 300986)
Biosafety level	1

NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP-cellen | 300986

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_UR51**GMO Status** GMO-S1: Dit HeLa R19 FlpIn TReX-derivaat bevat constructen waarin Flp-recombinase is geïntegreerd en die coderen voor H2B-mCherry en doxycycline-induceerbaar NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP, met een G418-resistentiemarker. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders afwijken.**Biomoleculaire gegevens****Protein expression** H2B-mCherry en DOx-induceerbare NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP**Omgaan met****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS, 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.**Split ratio** Een verhouding van 1:3 wordt aanbevolen**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP-cellen | 300986

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP-cellen | 300986

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.