

NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP-celler | 300986

Allmän information

Description	Denna klonala stabila cellinje genererades genom transfektion av en cirkulär plasmid och genom Flp-rekombination följt av selektion av läkemedelsresistens.
Organism	Människan
Tissue	Livmoder
Disease	Adenocarcinom
Metastatic site	Primärtumörens lokalisation (endocervix/livmoderhalsen)
Applications	Omstrukturering av kärnhinnan; biologin kring lamin B-receptorn (LBR); doxycyklininducerad genuttryck; HeLa Kyoto FlpIn TREx-systemet; interaktioner mellan kromatin och lamina; avbildning av levande celler; studier av villkorlig nedreglering med hjälp av NS3-medierad närhetsmärkning
Synonyms	HeLa R19 FlpIn TREx H2B-Cherry/NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP

Egenskaper

Age	30 år
Gender	Kvinna
Ethnicity	Afroamerikan
Morphology	Fibroblastliknande
Cell type	Epiteliala celler
Growth properties	Följsam

Lagstadgade uppgifter

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: Detta HeLa R19 FlpIn TReX-derivat innehåller Flp-rekombinasintegrerade konstruktioner som kodar för H2B-mCherry och doxycyclininducerbart NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP, med G418-resistensmarkör. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt i andra länder.**Biomolekylära data****Protein expression** H2B-mCherry och DOx-inducerbar NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP**Hantering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS, 0,5 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.**Split ratio** Ett förhållande på 1:3 rekommenderas**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka**Freeze medium** Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP-celler | 300986

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP-celler | 300986

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.