

Celice NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP | 300986

Splošne informacije

Description	Ta stabilna klonska celična linija je bila ustvarjena s transfekcijo krožnega plazmida in rekombinacijo Flp, ki ji je sledila selekcija odpornosti na zdravila.
Organism	Človek
Tissue	Maternica
Disease	Adenokarcinom
Metastatic site	Lokacija primarnega tumorja (endocerviks/maternični vrat)
Applications	Preoblikovanje jedrske ovojnice; biologija receptorja za lamin B (LBR); ekspresija genov, ki jo inducira doksiciklin; sistem HeLa Kyoto FlpIn TREx; interakcije med kromatinom in lamina; slikanje živih celic; študije pogojnega zmanjšanja količine z označevanjem bližine, posredovanim z NS3
Synonyms	HeLa R19 FlpIn TREx H2B-Cherry/NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP

Značilnosti

Age	30 let
Gender	Ženske
Ethnicity	Afroameričan
Morphology	Fibroblastom podobni
Cell type	Epitelijske celice
Growth properties	Pripadajoče

Regulativni podatki

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

Celice NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP | 300986**CellosaurusAccession** CVCL_UR51**GMO Status** GMO-S1: Ta derivat HeLa R19 FlpIn TREx vsebuje konstrukte, v katere je vgrajena rekombinaza Flp in ki kodirajo H2B-mCherry ter doksiciklinom inducibilni NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP, skupaj z markerjem za odpornost proti G418. Ta klasifikacija velja le v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.**Biomolekularni podatki****Protein expression** H2B-mCherry in DOx inducibilen NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišču dodajte 10 % FBS, 0,5 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Split ratio** Priporoča se razmerje 1:3**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogska številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenga s kriom.

Celice NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP | 300986

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP | 300986

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.