

NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP Hücreleri | 300986

Genel bilgi

Description	Bu klonal stabil hücre hattı, dairesel bir plazmidin transfeksiyonu ve Flp rekombinasyonunun ardından ilaç direnci seçimi ile oluşturulmuştur.
Organism	İnsan
Tissue	Uterus
Disease	Adenokarsinom
Metastatic site	Birincil tümör yeri (endoserviks/serviks)
Applications	Nükleer zarın yeniden şekillenmesi; lamin B reseptörü (LBR) biyolojisi; doksisiklin ile indüklenebilir gen ekspresyonu; HeLa Kyoto FlpIn TReX sistemi; kromatin/lamina etkileşimleri; canlı hücre görüntüleme; NS3 aracılı yakınlık etiketlemesi kullanılarak yapılan koşullu tükenme çalışmaları
Synonyms	HeLa R19 FlpIn TReX H2B-Cherry/NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP

Özellikler

Age	30 yıl
Gender	Kadın
Ethnicity	Afro-Amerikan
Morphology	Fibroblast benzeri
Cell type	Epitel hücreleri
Growth properties	Yapışık

Düzenleyici Veriler

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

NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP Hücreleri | 300986

CellosaurusAccession CVCL_UR51**GMO Status** GMO-S1: Bu HeLa R19 FlpIn TReX türevi, H2B-mCherry ve doksiziklin ile indüklenebilir NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP'yi kodlayan, Flp rekombinaz ile entegre edilmiş yapıları ve G418 direnç belirtecini içerir. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya için geçerlidir ve başka ülkelerde farklılık gösterebilir.**Biyomoleküler Veriler****Protein expression** H2B-mCherry ve DOx ile indüklenebilir NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP**Elleçleme****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)**Supplements** Ortamı %10 FBS, 0,5 mg/mL G418 ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Split ratio** 1:3 oranı tavsiye edilir**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP Hücreleri | 300986**Thawing and
Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

**Freezing
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP Hücreleri | 300986

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.