

## Células NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP | 300986

## Información general

<b>Description</b>	Esta línea celular clonal estable se generó mediante la transfección de un plásmido circular y la recombinación Flp, seguida de una selección por resistencia a fármacos.
<b>Organism</b>	Humano
<b>Tissue</b>	Endocérvix
<b>Disease</b>	Adenocarcinoma
<b>Metastatic site</b>	Localización del tumor primario (endocérvix/cérvix)
<b>Applications</b>	Remodelación de la envoltura nuclear; biología del receptor de la lamina B (LBR); expresión génica inducible por doxiciclina; sistema FlpIn TREx de HeLa Kyoto; interacciones entre la cromatina y la lamina; imágenes de células vivas; estudios de depleción condicional mediante marcaje de proximidad mediado por NS3
<b>Synonyms</b>	HeLa R19 FlpIn TREx H2B-Cherry/NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP

## Características

<b>Age</b>	30 años
<b>Gender</b>	Mujer
<b>Ethnicity</b>	Afroamericano
<b>Morphology</b>	De tipo epitelial
<b>Cell type</b>	Células epiteliales
<b>Growth properties</b>	Adherente

## Datos normativos

<b>Citation</b>	NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP (número de catálogo de Cytion 300986)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606

**Células NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP | 300986****CellosaurusAccession** CVCL\_UR51**GMO Status**

GMO-S1: Este derivado de HeLa R19 FlpIn TREx contiene constructos integrados mediante la recombinasa Flp que codifican H2B-mCherry y NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP inducible por doxiciclina, con un marcador de resistencia a G418. Esta clasificación se aplica únicamente en Alemania y puede variar en otros países.

**Datos biomoleculares****Protein expression**

H2B-mCherry y NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP inducible por DOx

**Manejo****Culture Medium**DMEM, p/v: 4,5 g/L de glucosa, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, p/v: 1,0 mM de piruvato de sodio (número de artículo de Cytion 820300a)**Supplements**

Añade al medio un 10 % de FBS y 0,5 mg/mL de G418

**Dissociation Reagent**

Accutase

**Subculturing**

Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfíralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.

**Fluid renewal**

De 2 a 3 veces por semana

**Freeze medium**

Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

## Células NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP | 300986

### Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiera todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 % de  $\text{CO}_2$ , atmósfera humidificada.

### Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

### Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre  $-150$  y  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ , aproximadamente. El almacenamiento a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

## Control de calidad y análisis molecular

### **Sterility**

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.