

Cellules NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP | 300986**Renseignements généraux**

Description	Cette lignée cellulaire clonale stable a été obtenue par transfection d'un plasmide circulaire, puis par recombinaison FIp suivie d'une sélection sur la base de la résistance à un médicament.
Organism	Humain
Tissue	Endocervix
Disease	Adénocarcinome
Metastatic site	Site de la tumeur primaire (endocervix/col de l'utérus)
Applications	Remodelage de l'enveloppe nucléaire; biologie du récepteur de la lamine B (LBR); expression génique inducible par la doxycycline; système FIpIn TREx de HeLa Kyoto; interactions entre la chromatine et la lamine; imagerie de cellules vivantes; études de déplétion conditionnelle par marquage de proximité médiée par NS3
Synonyms	HeLa R19 FIpIn TREx H2B-Cherry/NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP

Caractéristiques

Age	30 ans
Gender	Femme
Ethnicity	Afro-Américain
Morphology	De type épithélial
Cell type	Cellules épithéliales
Growth properties	Adepte

Données réglementaires

Citation	NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP (numéro de catalogue Cytion 300986)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

Cellules NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP | 300986**CellosaurusAccession** CVCL_UR51**GMO Status** GMO-S1 : Ce dérivé de la lignée HeLa R19 FlpIn TReX contient des constructions intégrées par la recombinaison Flp codant pour H2B-mCherry et NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP inducible par la doxycycline, avec un marqueur de résistance au G418. Cette classification s'applique uniquement en Allemagne et peut différer ailleurs.**Données biomoléculaires****Protein expression** H2B-mCherry et NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP inducible par la DOx**Manipulation****Culture Medium** DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de NaHCO₃, p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)**Supplements** Ajouter au milieu 10 % de FBS et 0,5 mg/mL de G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP | 300986

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5 % de CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C . L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Cellules NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP | 300986

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.