

Tế bào NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP | 300986

Thông tin chung

Description	Dòng tế bào ổn định vô tính này được tạo ra bằng cách chuyển gen bằng plasmid vòng và tái tổ hợp Flp, sau đó được chọn lọc dựa trên khả năng kháng thuốc.
Organism	Con người
Tissue	Tử cung
Disease	Ung thư biểu mô tuyến
Metastatic site	Vị trí khối u nguyên phát (nội cổ tử cung/cổ tử cung)
Applications	Quá trình tái cấu trúc màng nhân; sinh học của thụ thể lamin B (LBR); biểu hiện gen có thể được kích hoạt bởi doxycycline; hệ thống HeLa Kyoto FlpIn TREx; tương tác giữa chromatin và lamina; quan sát tế bào sống; các nghiên cứu về sự suy giảm có điều kiện bằng phương pháp đánh dấu gần do NS3 trung gian
Synonyms	HeLa R19 FlpIn TREx H2B-Cherry/NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP

Đặc điểm

Age	30 năm
Gender	Nữ
Ethnicity	Người Mỹ gốc Phi
Morphology	Tế bào giống fibroblast
Cell type	Tế bào biểu mô
Growth properties	Người tuân thủ

Dữ liệu quy định

Citation	NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP (Số catalog của Cytion: 300986)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

Tế bào NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP | 300986**CellosaurusAccession** CVCL_UR51

GMO Status GMO-S1: Dòng tế bào HeLa R19 FlpIn TREx biến đổi gen này chứa các cấu trúc gen được tích hợp bằng enzyme tái tổ hợp Flp, mã hóa H2B-mCherry và NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP có thể được kích hoạt bằng doxycycline, kèm theo gen chỉ thị kháng G418. Phân loại này chỉ áp dụng tại Đức và có thể khác nhau ở các quốc gia khác.

Dữ liệu sinh học phân tử

Protein expression H2B-mCherry và DOx có thể được kích hoạt bởi NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP

Xử lý

Culture Medium DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L NaHCO₃, chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)

Supplements Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 10% huyết thanh bò phôi (FBS) và 0,5 mg/mL G418

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.

Split ratio Tỷ lệ 1:3 được khuyến nghị

Fluid renewal 2 đến 3 lần mỗi tuần

Freeze medium Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

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

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở $300 \times g$ trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Không có

**Freezing
Procedure**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

**Shipping
Conditions**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào NS3-CMPK-hLBR1TM-mEGFP | 300986

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196 °C. Việc bảo quản ở -80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.