

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP-celler | 300174

Generel information

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP er en genetisk modificeret cellelinje, der stammer fra den humane osteosarkom U-2 OS-forældrelinje. Denne cellelinje indeholder en målrettet indsættelse af det monomere Enhanced Green Fluorescent Protein (mEGFP)-tag ved NUP96-genet, opnået ved hjælp af CRISPR-Cas9-genredigeringsteknologien. NUP96, der er en del af kerneporekomplekset, er afgørende for nuklear transport, og dets fusion med mEGFP giver mulighed for realtidsvisualisering af kerneporedynamik under fluorescerende mikroskopi, hvilket giver værdifuld indsigt i nukleare transportmekanismer og nukleocytoplasmatiske handlinger.

Denne specifikke klon, nummereret 195, er blevet udvalgt for sit stabile udtryk af NUP96-mEGFP-fusionsproteinet og opretholder de typiske egenskaber ved U-2 OS-afstamningen, herunder en robust cytoskeletal struktur, som er kritisk i undersøgelser relateret til kræftcellemigration og metastase. Anvendelsen af CRISPR-teknologi sikrer præcis genredigering og minimerer off-target-effekter, som kan kompromittere integriteten af de eksperimentelle resultater. Dette gør U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP klon nr. 195 særligt nyttig til billeddannelsesteknikker med høj opløsning og detaljerede studier af cellearkitektur, hvilket hjælper med avanceret forskning i cellebiologi, kræftforskning og nukleare transportfænomener.

Organism Menneske

Tissue Knogle

Disease Osteosarkom

Karakteristika

Age 15 år

Gender Kvinde

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Epitel-lignende

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP klon nr. 195 (Cytion katalognummer 300174)

Biosafety level 1

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP-celler | 300174

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FJ**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Denne humane osteosarkomcellelinje (U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP, klon 195) indeholder en CRISPR-konstrueret NUP96-mEGFP-fusion introduceret via lentiviral levering, hvilket muliggør fluorescerende sporing af nukleare porekomplekser. Modifikationen er stabilt integreret. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Protein expression** MEGFP (kerneporekompleks-protein 96, mEGFP-mærket)**Håndtering****Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glukose, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820200a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS, 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Seeding density** 2 til 3 x 10⁴ celler/cm²**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP-celler | 300174**Thawing and
Culturing Cells**

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

**Freezing
Procedure**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

**Shipping
Conditions**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP-celler | 300174

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.