

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple-Zellen | 300461

Allgemeine Informationen

Description

Die U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple ist eine gentechnisch veränderte Osteosarkom-Zelllinie, die von der menschlichen U-2 OS-Zelllinie abgeleitet ist, die für ihre robusten Wachstumseigenschaften und ihre Nützlichkeit in verschiedenen biologischen Studien bekannt ist. Dieser spezielle Klon wurde mit Hilfe der CRISPR/Cas9-Gene Editing-Technologie so verändert, dass mMaple, ein photokonvertierbares fluoreszierendes Protein, in das NUP96-Gen eingebaut wurde. Das mMaple-Protein ermöglicht fortschrittliche Bildgebungstechniken wie Live-Cell-Imaging und Super-Resolution-Mikroskopie, die dynamische Einblicke in das Verhalten des Kernporenkomplexes (NPC) und die zellulären Import- und Exportmechanismen durch die Kernhülle ermöglichen.

Das NUP96-Gen, das für eine entscheidende Komponente des NPC kodiert, ist für den nukleozytoplasmatischen Transport unerlässlich. Eine Veränderung von NUP96 kann nicht nur die Transportmechanismen, sondern auch die gesamte Kernarchitektur und -funktion beeinträchtigen. Diese Zelllinie ist daher ein hervorragendes Modell für die Untersuchung von NPC-bezogenen Pathologien und der Rolle des Kerntransports im zellulären Stoffwechsel und in der Signalübertragung. Die Integration von mMaple in NUP96 ermöglicht die Echtzeitverfolgung und Visualisierung der NUP96-Dynamik in vivo und macht es zu einem unverzichtbaren Werkzeug für Forscher, die sich mit Zellkernstudien befassen und die Auswirkungen von NPC-Funktionsstörungen bei Krankheiten wie Krebs und Virusinfektionen untersuchen.

Als spezialisiertes Werkzeug unterstützt der U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple-Klon Nr. 16 hochauflösende Bildgebung und liefert umfangreiche Daten zur räumlichen und zeitlichen Verteilung von NPC-Komponenten. Er ist besonders wertvoll für Experimente, die eine detaillierte Analyse der Genexpression, der Proteinlokalisierung und des Kerntransports unter physiologischen und pathologischen Bedingungen erfordern, was ein tieferes Verständnis der zellulären Prozesse auf molekularer Ebene ermöglicht.

Organism	Menschen
-----------------	----------

Tissue	Knochen
---------------	---------

Disease	Osteosarkom
----------------	-------------

Merkmale

Age	15 Jahre
------------	----------

Gender	Weiblich
---------------	----------

Ethnicity	Kaukasisch
------------------	------------

Growth properties	Adhärent
--------------------------	----------

Regulatorische Daten

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple-Zellen | 300461

Citation U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (Cytion-Katalognummer 300461)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FK**Depositor** Das Ellenberg-Labor (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Diese menschliche Osteosarkom-Zelllinie (U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple, Klon 16) enthält eine CRISPR-vermittelte NUP96-mMaple-Fusion, die eine photokonvertierbare Markierung von Kernporenstrukturen ermöglicht. Das Konstrukt ist stabil vorhanden. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Protein expression NUP96-mMaple (endogenes Kernporenkomplex-Protein 96, mMaple-markiert)

Handhabung

Culture Medium McCoy's 5a, w: 3,0 g/L Glucose, w: stabiles Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820200a)

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS, 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Split ratio Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3 bis 1:6

Seeding density 1×10^4 Zellen/cm²

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple-Zellen | 300461

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating Keine

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple-Zellen | 300461

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.