

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP-Zellen | 300174**Allgemeine Informationen****Description**

Die U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP ist eine gentechnisch veränderte Zelllinie, die von der menschlichen Osteosarkom-U-2 OS-Elternlinie abgeleitet ist. Diese Zelllinie enthält eine gezielte Einfügung des monomeren Enhanced Green Fluorescent Protein (mEGFP) in den NUP96-Genlocus, die durch die CRISPR-Cas9-Gen-Editing-Technologie erreicht wurde. NUP96, Teil des Kernporenkomplexes, ist für den Kerntransport unerlässlich, und seine Fusion mit mEGFP ermöglicht die Echtzeit-Visualisierung der Kernporendynamik unter dem Fluoreszenzmikroskop, was wertvolle Einblicke in die Mechanismen des Kerntransports und des nukleozytoplasmatischen Traffics ermöglicht.

Dieser spezifische Klon mit der Nummer 195 wurde aufgrund seiner stabilen Expression des NUP96-mEGFP-Fusionsproteins ausgewählt und weist die typischen Merkmale der U-2-OS-Linie auf, einschließlich einer robusten Zytoskelettstruktur, die für Studien im Zusammenhang mit der Migration und Metastasierung von Krebszellen von entscheidender Bedeutung ist. Die Anwendung der CRISPR-Technologie gewährleistet einen präzisen Gen-Editiervorgang und minimiert Off-Target-Effekte, die die Integrität der Versuchsergebnisse beeinträchtigen könnten. Dies macht den U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP-Klon Nr. 195 besonders nützlich für hochauflösende Bildgebungsverfahren und detaillierte Studien der Zellarchitektur, die die Forschung in den Bereichen Zellbiologie, Krebsforschung und Kerntransportphänomene unterstützen.

Organism Menschen**Tissue** Knochen**Disease** Osteosarkom**Merkmale****Age** 15 Jahre**Gender** Weiblich**Ethnicity** Kaukasisch**Morphology** Epithelähnlich**Growth properties** Adhärent**Identifikatoren / Biologische Schutzstufe / Zitation****Citation** U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP (Cytion-Katalognummer 300174)

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP-Zellen | 300174**Biosafety level** 1**Expression / Mutation****Protein expression** mEGFP (Kernporenkomplex-Protein 96, mEGFP-markiert)**Handhabung****Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glucose, w: stabiles Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820200a)**Medium supplements** Supplementierung des Mediums mit 10% FBS, 1% NEAA**Passaging solution** 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** Es wird ein Verhältnis von 1:2 alle 2 bis 3 Tage empfohlen. Kann bis 1 Tag nach der Konfluenz aufbewahrt werden**Seeding density** 2 bis 3 x 10⁴ Zellen/cm²**Fluid renewal** 2 bis 3 Mal pro Woche**Freeze medium** Verwenden Sie als Kryokonservierungsmedium ein 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.

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP-Zellen | 300174

Handling of cryopreserved cultures

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $300 \times g$, 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 adhärenenten 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.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

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.

STR profile

PEZ6: CLS-354