

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

Regulatorische Daten

Citation U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP Klon Nr. 195 (Cytion Katalognummer 300174)

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP-Zellen | 300174

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_B7FJ

Depositor Das Ellenberg-Labor (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Diese humane Osteosarkom-Zelllinie (U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP, Klon 195) enthält eine CRISPR-veränderte NUP96-mEGFP-Fusion, die durch lentivirale Verabreichung eingeführt wurde und die fluoreszierende Verfolgung von Kernporenkomplexen ermöglicht. Die Modifikation ist stabil integriert. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Protein expression MEGFP (Kernporenkomplexprotein 96, mEGFP-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 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 3×10^4 Zellen/cm²

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP-Zellen | 300174

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 adhärennten 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% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP-Zellen | 300174

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 / 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-Profil

PEZ6: CLS-354