

## Κύτταρα U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461

## Γενικές πληροφορίες

## Description

Η U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple είναι μια γενετικά τροποποιημένη κυτταρική σειρά οστεοσαρκώματος που προέρχεται από την ανθρώπινη κυτταρική σειρά U-2 OS, γνωστή για τα ισχυρά χαρακτηριστικά ανάπτυξης της και τη χρησιμότητά της σε διάφορες βιολογικές μελέτες. Ο συγκεκριμένος κλώνος έχει τροποποιηθεί με τη χρήση της τεχνολογίας γονιδιακής επεξεργασίας CRISPR/Cas9 για την ενσωμάτωση της mMaple, μιας φωτομετατρέπομενης φθορίζουσας πρωτεΐνης, στο γονίδιο NUP96. Η πρωτεΐνη mMaple επιτρέπει προηγμένες τεχνικές απεικόνισης, όπως η απεικόνιση ζωντανών κυττάρων και η μικροσκοπία υπερ-ανάλυσης, παρέχοντας δυναμική εικόνα της συμπεριφοράς του συμπλόκου πυρηνικών πόρων (NPC) και των κυτταρικών μηχανισμών εισαγωγής-εξαγωγής μέσω του πυρηνικού περιβλήματος.

Το γονίδιο NUP96, το οποίο κωδικοποιεί ένα κρίσιμο συστατικό του NPC, είναι ζωτικής σημασίας για την πυρηνοκυτταροπλασματική μεταφορά. Η μεταβολή του NUP96 μπορεί να επηρεάσει όχι μόνο τους μηχανισμούς μεταφοράς αλλά και τη συνολική πυρηνική αρχιτεκτονική και λειτουργία. Αυτή η κυτταρική σειρά χρησιμεύει επομένως ως εξαιρετικό μοντέλο για τη μελέτη των παθολογιών που σχετίζονται με το NPC και του ρόλου της πυρηνικής μεταφοράς στον κυτταρικό μεταβολισμό και τη σηματοδότηση. Η ενσωμάτωση του mMaple στο NUP96 επιτρέπει την παρακολούθηση σε πραγματικό χρόνο και την οπτικοποίηση της δυναμικής του NUP96 in vivo, καθιστώντας το ένα απαραίτητο εργαλείο για τους ερευνητές που επικεντρώνονται στις μελέτες του κυτταρικού πυρήνα και για εκείνους που διερευνούν τις επιπτώσεις των δυσλειτουργιών του NPC σε ασθένειες όπως ο καρκίνος και οι ιογενείς λοιμώξεις.

Ως εξειδικευμένο εργαλείο, ο κλώνος U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple no.16 υποστηρίζει απεικόνιση υψηλής ανάλυσης και παρέχει σημαντικά δεδομένα σχετικά με τη χωρική και χρονική κατανομή των συστατικών του NPC. Είναι ιδιαίτερα πολύτιμος για πειράματα που απαιτούν λεπτομερή ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης, του πρωτεϊνικού εντοπισμού και της πυρηνικής μεταφοράς υπό φυσιολογικές και παθολογικές συνθήκες, διευκολύνοντας τη βαθύτερη κατανόηση των κυτταρικών διεργασιών σε μοριακό επίπεδο.

**Organism** Ανθρώπινο

**Tissue** Οστά

**Disease** Οστεοσάρκωμα

## Χαρακτηριστικά

**Age** 15 χρόνια

**Gender** Γυναίκα

**Ethnicity** Καυκάσιος

**Growth properties** Προσκολλημένο

**Κύτταρα U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461****Ρυθμιστικά δεδομένα**

<b>Citation</b>	U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (αριθμός καταλόγου Cytion 300461)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_B7FK
<b>Depositor</b>	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Αυτή η ανθρώπινη κυτταρική σειρά οστεοσαρκώματος (U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple, κλώνος 16) περιέχει μια σύντηξη NUP96-mMaple με τη μεσολάβηση CRISPR που επιτρέπει τη φωτομετατραπτή επισήμανση των δομών των πυρηνικών πόρων. Το κατασκευάσμα είναι σταθερά παρόν. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

**Βιομοριακά δεδομένα**

<b>Protein expression</b>	NUP96-mMaple (ενδογενής πρωτεΐνη 96 του συμπλέγματος πυρηνικών πόρων, με ετικέτα mMaple)
---------------------------	--

**Χειρισμός**

<b>Culture Medium</b>	McCoys 5a, w: 3,0 g/L γλυκόζη, w: σταθερή γλουταμίνη, w: 2,0 mM πυρροβικό νάτριο, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (αριθμός άρθρου Cytion 820200a)
<b>Supplements</b>	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 1% NEAA
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμειξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
<b>Seeding density</b>	1 x 10 <sup>4</sup> κύτταρα/cm <sup>2</sup>

**Κύτταρα U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461****Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα  $300 \times g$  για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation Atmosphere**37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.**Flask Coating**

Κανένα

## Κύτταρα U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461

### Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου  $-150$  έως  $-196^{\circ}\text{C}$ . Η αποθήκευση στους  $-80^{\circ}\text{C}$  είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

## Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

### Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.