Product sheet

Κύτταρα U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

Γενικές πληροφορίες

Description	Η U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP είναι μια γενετικά τροποποιημένη κυτταρική σειρά που προέρχεται από τη μητρική σειρά ανθρώπινου οστεοσαρκώματος U-2 OS. Αυτή η κυτταρική σειρά ενσωματώνει μια στοχευμένη εισαγωγή της μονομερούς ενισχυμένης πράσινης φθορίζουσας πρωτεΐνης (mEGFP) στον γονιδιακό τόπο NUP96, η οποία επιτυγχάνεται μέσω της τεχνολογίας γονιδιακής επεξεργασίας CRISPR-Cas9. Το NUP96, μέρος του συμπλόκου του πυρηνικού πόρου, είναι απαραίτητο για την πυρηνική μεταφορά και η σύντηξή του με την mEGFP επιτρέπει την οπτικοποίηση σε πραγματικό χρόνο της δυναμικής του πυρηνικού πόρου υπό φθορίζουσα μικροσκοπία, παρέχοντας πολύτιμες πληροφορίες για τους μηχανισμούς πυρηνικής μεταφοράς και την πυρηνικοκυτταροπλασματική διακίνηση. Ο συγκεκριμένος κλώνος, με αριθμό 195, έχει επιλεγεί για τη σταθερή έκφραση της πρωτεΐνης σύντηξης NUP96-mEGFP και διατηρεί τα τυπικά χαρακτηριστικά της σειράς U-2 OS, συμπεριλαμβανομένης μιας ισχυρής κυτταροσκελετικής δομής, η οποία είναι κρίσιμη σε μελέτες που σχετίζονται με τη μετανάστευση και τη μετάσταση καρκινικών κυττάρων. Η εφαρμογή της τεχνολογίας CRISPR διασφαλίζει την ακριβή γονιδιακή επεξεργασία, ελαχιστοποιώντας τις εκτός στόχου επιδράσεις που θα μπορούσαν να θέσουν σε κίνδυνο την ακεραιότητα των πειραματικών αποτελεσμάτων. Αυτό καθιστά τον κλώνο U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP αριθ. 195 ιδιαίτερα χρήσιμο για τεχνικές απεικόνισης υψηλής ανάλυσης και λεπτομερείς μελέτες κυτταρικής αρχιτεκτονικής, βοηθώντας στην προηγμένη έρευνα στην κυτταρική βιολογία, την έρευνα του καρκίνου και τα φαινόμενα πυρηνικής μεταφοράς.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Οστά
Disease	Οστεοσάρκωμα

Χαρακτηριστικά

Age	15 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	Επιθηλιοειδής
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP κλώνος αρ. 195 (αριθμός καταλόγου Cytion 300174)

Κύτταρα U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FJ
Depositor	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η ανθρώπινη κυτταρική σειρά οστεοσαρκώματος (U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP, κλώνος 195) περιέχει μια CRISPR-σχεδιασμένη σύντηξη NUP96-mEGFP, η οποία εισάγεται μέσω λεντιϊικής χορήγησης, επιτρέποντας την παρακολούθηση με φθορισμό των συμπλόκων των πυρηνικών πόρων. Η τροποποίηση είναι σταθερά ενσωματωμένη. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	MEGFP (πρωτεΐνη 96 του συμπλέγματος των πυρηνικών πόρων, με ετικέτα mEGFP)

Χειρισμός

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 g/L γλυκόζη, w: σταθερή γλουταμίνη, w: 2,0 mM πυρουβικό νάτριο, w: 2,2 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820200a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	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, αναμείξτε 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.
Seeding density	2 έως 3 x 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Κύτταρα U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

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°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°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 x 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%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Κύτταρα U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °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 °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 °C. Η αποθήκευση στους -80 °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.