

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple-solut U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple-solut | 300461

Yleisiä tietoja

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple on geneettisesti muunnettu osteosarkoomasolulinja, joka on johdettu ihmisen U-2 OS-solulinjasta, joka on tunnettu vahvoista kasvuominaisuuksistaan ja hyödyllisyydestään erilaisissa biologisissa tutkimuksissa. Tätä kloonina on muokattu CRISPR/Cas9-geeninmuokkaustekniikalla siten, että NUP96-geeniin on sisällytetty mMaple, valokonvertoituva fluoresoiva proteiini. mMaple-proteiini mahdollistaa kehittyneet kuvantamistekniikat, kuten elävän solun kuvantamisen ja superresoluutiomikroskopian, ja tarjoaa dynaamisen näkemyksen ydinhuokoskompleksin (NPC) käyttäytymisestä ja solujen tuonti- ja vientimekanismeista ydinkuoren läpi.

NUP96-geeni, joka koodaa NPC:n keskeistä komponenttia, on elintärkeä nukleosytolasman kuljetukselle. NUP96:n muutokset voivat vaikuttaa kuljetusmekanismien lisäksi myös ydinkeskustan yleiseen arkkitehtuuriin ja toimintaan. Tämä solulinja toimii näin ollen erinomaisena mallina NPC:hen liittyvien patologioiden ja ydinkuljetuksen roolin tutkimiseen solujen aineenvaihdunnassa ja signaaloinnissa. mMaplen integrointi NUP96:een mahdollistaa NUP96:n dynamiikan reaaliaikaisen seurannan ja visualisoinnin in vivo, mikä tekee siitä välttämättömän työkalun tutkijoille, jotka keskittyvät soluytimen tutkimukseen ja tutkivat NPC:n toimintahäiriöiden vaikutuksia sairauksiin, kuten syöpään ja virusinfektioihin.

Erikoistyökaluna U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple-klooni nro 16 tukee korkearesoluutioista kuvantamista ja tarjoaa merkittävää tietoa NPC-komponenttien alueellisesta ja ajallisesta jakautumisesta. Se on erityisen arvokas kokeissa, jotka edellyttävät geeniekspression, proteiinien lokalisoitumisen ja ydinkuljetuksen yksityiskohtaista analysointia fysiologisissa ja patologisissa olosuhteissa, mikä helpottaa soluprosessien syvempää ymmärtämistä molekyyllitasolla.

Organism Ihminen

Tissue Luu

Disease Osteosarkooma

Ominaisuudet

Age 15 vuotta

Gender Nainen

Ethnicity Kaukasialainen

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple-solut U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple-solut | 300461

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (Cytionin luettelonumero 300461)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FK
Depositor	Ellenbergin laboratorio (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Tämä ihmisen osteosarkoomasolulinja (U2OS-CRISPR-CRISPR-NUP96-mMaple, klooni 16) sisältää CRISPR-välitteisen NUP96-mMaple-fusion, joka mahdollistaa ydinhuokosrakenteiden valomerkinän. Konstruktio on stabiilisti läsnä. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

Biomolekyyli tiedot

Protein expression	NUP96-mMaple (endogeeninen ydinhuokoskompleksin proteiini 96, mMaple-merkitty)
---------------------------	--

Käsittely

Culture Medium	McCoy's 5a, w: 3,0 g/l glukoosia, w: vakaa glutamiini, w: 2,0 mM natriumpyruvaattia, w: 2,2 g/l NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820200a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:ää, 1 %:lla NEAA:ta
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliainetta.
Seeding density	1×10^4 solua/cm ²
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple-solut U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple-solut | 300461

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple-solut U2OS-CRISPR-NUP96-
mMaple
-solut | 300461**

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.