

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP sejtek | 300174

Általános információk

Description

Az U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP egy genetikailag módosított sejtvonal, amely a humán osteosarcoma U-2 OS szülővonalból származik. Ez a sejtvonal a monomerikus, fokozottan zöld fluoreszcens fehérje (mEGFP) címkének a NUP96 génlókusza történő célzott beillesztését tartalmazza, amelyet a CRISPR-Cas9 génszerkesztési technológiával értek el. A nukleáris pórus komplex részét képező NUP96 a nukleáris transzporthoz elengedhetetlen, és a mEGFP-vel való fúziója lehetővé teszi a nukleáris pórus dinamikájának valós idejű vizualizálását fluoreszcens mikroszkópia segítségével, ami értékes betekintést nyújt a nukleáris transzportmechanizmusok és a nukleocitoplazmatikus kereskedelembe.

Ezt a 195-ös számmal jelölt klónt a NUP96-mEGFP fúziós fehérje stabil expressziója miatt választottuk ki, és fenntartja az U-2 OS vonal jellegzetes tulajdonságait, beleértve a robusztus citoskeletális szerkezetet, amely kritikus fontosságú a rákos sejtek migrációjával és metasztázisával kapcsolatos vizsgálatokban. A CRISPR technológia alkalmazása biztosítja a pontos génszerkesztést, minimalizálva a célponton kívüli hatásokat, amelyek veszélyeztethetik a kísérleti eredmények integritását. Ez teszi az U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP 195. számú klónt különösen hasznossá a nagy felbontású képalkotó technikák és a részletes sejtarchitektúra-vizsgálatok számára, segítve a sejtbiológia, a rákkutatás és a nukleáris transzport jelenségeinek fejlett kutatását.

Organism Emberi

Tissue Csont

Disease Osteosarcoma

Jellemzők

Age 15 év

Gender Női

Ethnicity Kaukázusi

Morphology Epithelszerű

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP klón száma: 195 (Cytion katalógusszám: 300174)

Biosafety level 1

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP sejtek | 300174

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FJ**Depositor** Az Ellenberg Labor (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ez a humán osteosarcoma sejtvonal (U2OS-CRISPR-CRISPR-NUP96-mEGFP, 195-ös klón) egy CRISPR által módosított NUP96-mEGFP fúziót tartalmaz, amelyet lentivirális úton juttattak be, lehetővé téve a nukleáris pórus komplexek fluoreszcens nyomon követését. A módosítás stabilan integrálódik. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.**Biomolekuláris adatok****Protein expression** MEGFP (nukleáris pórus komplex 96 fehérje, mEGFP címkével ellátva)**A kezelése****Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/L glükóz, w: stabil glutamin, w: 2,0 mM nátrium-piruvát, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion cikkszám: 820200a)**Supplements** A táptalajt 10% FBS-szel, 1% NEAA-val egészítsük ki**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percre hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percre. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Seeding density** 2-3 x 10⁴ sejt/cm²**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP sejtek | 300174**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP sejtek | 300174

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatói módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.