

Sel U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461

Informasi umum

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple adalah garis sel osteosarkoma yang direkayasa secara genetik yang berasal dari garis sel U-2 OS manusia, yang dikenal karena karakteristik pertumbuhannya yang kuat dan kegunaannya dalam berbagai penelitian biologis. Klon khusus ini telah dimodifikasi menggunakan teknologi pengeditan gen CRISPR/Cas9 untuk memasukkan mMaple, protein fluoresen yang dapat dikonversi, ke dalam gen NUP96. Protein mMaple memungkinkan teknik pencitraan canggih seperti pencitraan sel hidup dan mikroskop resolusi tinggi, memberikan wawasan dinamis ke dalam perilaku kompleks pori nuklir (NPC) dan mekanisme ekspor-impor seluler melalui selubung nuklir.

Gen NUP96, yang mengkodekan komponen penting dari NPC, sangat penting untuk transportasi nukleositoplasma. Perubahan NUP96 tidak hanya dapat mempengaruhi mekanisme transpor tetapi juga arsitektur dan fungsi nuklir secara keseluruhan. Oleh karena itu, garis sel ini berfungsi sebagai model yang sangat baik untuk mempelajari patologi terkait NPC dan peran transpor nuklir dalam metabolisme dan pensinyalan seluler. Integrasi mMaple ke dalam NUP96 memungkinkan pelacakan waktu nyata dan visualisasi dinamika NUP96 secara in vivo, menjadikannya alat yang sangat diperlukan bagi para peneliti yang berfokus pada studi inti sel dan mereka yang mengeksplorasi implikasi disfungsi NPC pada penyakit seperti kanker dan infeksi virus.

Sebagai alat khusus, klon U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple no.16 mendukung pencitraan resolusi tinggi dan menyediakan data substansial mengenai distribusi spasial dan temporal komponen NPC. Ini sangat berharga untuk eksperimen yang membutuhkan analisis terperinci tentang ekspresi gen, lokalisasi protein, dan transpor nuklir dalam kondisi fisiologis dan patologis, memfasilitasi pemahaman yang lebih dalam tentang proses seluler pada tingkat molekuler.

Organism Manusia

Tissue Tulang

Disease Osteosarkoma

Karakteristik

Age 15 tahun

Gender Perempuan

Ethnicity Kaukasia

Growth properties Patuh

Data Peraturan

Sel U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (nomor katalog Cytion 300461)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FK
Depositor	Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Garis sel osteosarkoma manusia ini (U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple, klon 16) mengandung fusi NUP96-mMaple yang dimediasi oleh CRISPR yang memungkinkan pelabelan struktur pori-pori nuklir yang dapat dikonversi secara fotokonversi. Konstruk ini hadir secara stabil. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.

Data Biomolekuler

Protein expression	NUP96-mMaple (protein kompleks pori nuklir endogen 96, ditandai dengan mMaple)
---------------------------	--

Penanganan

Culture Medium	McCoy's 5a, w: 3,0 g/L Glukosa, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natrium piruvat, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ (Nomor artikel Cytion 820200a)
Supplements	Lengkapi media dengan 10% FBS, 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.
Seeding density	1×10^4 sel/cm ²
Fluid renewal	2 hingga 3 kali per minggu

Sel U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461**Freeze medium**

Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $300 \times g$ selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

Flask Coating

Tidak ada

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196°C . Penyimpanan pada suhu -80°C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.