

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple ląstelės | 300461

Bendra informacija

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple yra genetiškai sukurta osteosarkomos ląstelių linija, gauta iš žmogaus U-2 OS ląstelių linijos, žinomos dėl savo stiprių augimo savybių ir naudingumo atliekant įvairius biologinius tyrimus. Šis konkretus klonas buvo modifikuotas naudojant CRISPR/Cas9 genų redagavimo technologiją, kad į NUP96 geną būtų įtrauktas mMaple - fotokonvertuojamas fluorescencinis baltymas. Baltymas mMaple leidžia taikyti pažangius vaizdavimo metodus, tokius kaip gyvų ląstelių vaizdavimas ir superišsiskiriančioji mikroskopija, leidžiančius dinamiškai išvelgti branduolio porų kompleksų (NPC) elgseną ir ląstelių importo ir eksporto mechanizmus per branduolio apvalkalą.

NUP96 genas, koduojantis svarbų NPC komponentą, yra gyvybiškai svarbus nukleocitoplazminiam pernešimui. NUP96 pokyčiai gali turėti įtakos ne tik transportavimo mechanizmams, bet ir bendrai branduolio architektūrai ir funkcijai. Todėl ši ląstelių linija yra puikus modelis su NPC susijusioms patologijoms ir branduolio transporto vaidmeniui ląstelių metabolizme ir signalizavime tirti. mMaple integracija į NUP96 leidžia realiuoju laiku stebėti ir vizualizuoti NUP96 dinamiką in vivo, todėl tai yra nepakeičiama priemonė mokslininkams, besigilinantiems į ląstelių branduolių tyrimus ir tyrinėjantiems NPC funkcijų sutrikimų reikšmę tokioms ligoms kaip vėžys ir virusinės infekcijos.

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple klonas Nr. 16, kaip specializuotas įrankis, palaiko didelės skiriamosios gebos vaizdavimą ir suteikia daug duomenų apie NPC komponentų erdvinį ir laikinį pasiskirstymą. Jis ypač vertingas atliekant eksperimentus, kai reikia išsamiai analizuoti genų raišką, baltymų lokalizaciją ir branduolių pernešimą fiziologinėmis ir patologinėmis sąlygomis, o tai padeda geriau suprasti ląstelinius procesus molekulinio lygmeniu.

Organism Žmogus

Tissue Kaulas

Disease Osteosarkoma

Charakteristikos

Age 15 metų

Gender Moteris

Ethnicity Kaukazičių

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple ląstelės | 300461

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (Cytion katalogo numeris 300461)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FK
Depositor	Ellenbergo laboratorija (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Šioje žmogaus osteosarkomos ląstelių linijoje (U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple, 16 klonas) yra CRISPR tarpininkaujama NUP96-mMaple sintezė, leidžianti fotokonvertuojamai žymėti branduolio porų struktūras. Konstruktas yra stabilus. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression	NUP96-mMaple (endogeninis branduolio porų komplekso baltymas 96, pažymėtas mMaple)
---------------------------	--

Tvarkymas

Culture Medium	McCoy's 5a, w: 3,0 g/l gliukozės, w: stabilus glutaminas, w: 2,0 mM natrio piruvatas, w: 2,2 g/l NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820200a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS, 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpildykite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Seeding density	1×10^4 ląstelės/cm ²
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę

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

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple ląstelės | 300461

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.