

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP-cellen | 300174

Algemene informatie

Description

De U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP is een genetisch gemodificeerde cellijn die is afgeleid van de menselijke osteosarcoom U-2 OS-ouderlijn. Deze cellijn bevat een doelgerichte invoeging van de monomere Enhanced Green Fluorescent Protein (mEGFP)-tag in de NUP96-genlocus, bereikt met de CRISPR-Cas9-genbewerkingstechnologie. NUP96, onderdeel van het nucleaire poriecomplex, is essentieel voor nucleair transport en de fusie met mEGFP maakt real-time visualisatie van de dynamica van de nucleaire porie mogelijk onder fluorescentiemicroscopie, wat waardevolle inzichten oplevert in nucleaire transportmechanismen en nucleocytoplasmatische handel.

Deze specifieke kloon, genummerd 195, is geselecteerd vanwege de stabiele expressie van het fusie-eiwit NUP96-mEGFP en behoudt de typische kenmerken van de U-2 OS-lijn, waaronder een robuuste cytoskeletstructuur die cruciaal is in onderzoeken naar migratie en metastase van kankercellen. De toepassing van CRISPR-technologie zorgt voor nauwkeurige genbewerking en minimaliseert off-target effecten die de integriteit van de experimentele resultaten in gevaar zouden kunnen brengen. Dit maakt U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP kloon nr.195 bijzonder nuttig voor beeldvormingstechnieken met hoge resolutie en gedetailleerde studies van de cellulaire architectuur, wat bijdraagt aan geavanceerd onderzoek op het gebied van cellulaire biologie, kankeronderzoek en nucleaire transportverschijnselen.

Organism

Mens

Tissue

Bot

Disease

Osteosarcoom

Kenmerken

Age

15 jaar

Gender

Vrouw

Ethnicity

Kaukasisch

Morphology

Epitheelachtig

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP kloon nr.195 (Cytion catalogusnummer 300174)

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP-cellen | 300174

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FJ**Depositor** Het Ellenberg Lab (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Deze menselijke osteosarcomcellijn (U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP, kloon 195) bevat een CRISPR-gemodificeerde NUP96-mEGFP-fusie die via lentivirale toediening is geïntroduceerd en fluorescentie van nucleaire poriëcomplexen mogelijk maakt. De modificatie is stabiel geïntegreerd. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders afwijken.**Biomoleculaire gegevens****Protein expression** MEGFP (eiwit 96 van het nucleaire poriëncomplex, gemerkt met mEGFP)**Omgaan met****Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glucose, w: stabiel Glutamine, w: 2,0 mM Natriumpyruvaat, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820200a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS, 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.**Split ratio** Een verhouding van 1:2 om de 2 tot 3 dagen wordt aanbevolen. Kan bewaard worden tot 1 dag na confluentie**Seeding density** 2 tot 3 x 10⁴ cellen/cm²**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP-cellen | 300174

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP-cellen | 300174

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

PEZ6: CLS-354