

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple-celler | 300461

Generell informasjon

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple er en genmodifisert osteosarkomcellelinje avledet fra den humane U-2 OS-cellelinjen, som er kjent for sine robuste vekstegenskaper og anvendelighet i ulike biologiske studier. Denne klonen har blitt modifisert ved hjelp av CRISPR/Cas9-genredigeringsteknologi for å inkorporere mMaple, et fotokonverterbart fluorescerende protein, i NUP96-genet. MMaple-proteinet gjør det mulig å bruke avanserte avbildningsteknikker som levende celleavbildning og superoppløsningsmikroskopi, noe som gir dynamisk innsikt i atferden til kjerneporkomplekset (NPC) og cellulære import- og eksportmekanismer gjennom kjerneskjoldet.

NUP96-genet, som koder for en viktig komponent i NPC, er avgjørende for nukleocytoplasmatisk transport. Endringer i NUP96 kan ikke bare påvirke transportmekanismene, men også den generelle kjernearkitekturen og -funksjonen. Denne cellelinjen er derfor en utmerket modell for å studere NPC-relaterte patologier og kjernetransportens rolle i cellulær metabolisme og signalering. Integrasjonen av mMaple i NUP96 gjør det mulig å spore og visualisere NUP96-dynamikken in vivo i sanntid, noe som gjør den til et uunnværlig verktøy for forskere som fokuserer på studier av cellekjerner, og for dem som utforsker konsekvensene av NPC-dysfunksjoner i sykdommer som kreft og virusinfeksjoner.

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple klon nr. 16 er et spesialisert verktøy som støtter høyoppløselig avbildning og gir omfattende data om den romlige og tidsmessige fordelingen av NPC-komponenter. Det er spesielt verdifullt for eksperimenter som krever detaljert analyse av gennuttrykk, proteinlokalisering og nukleær transport under fysiologiske og patologiske forhold, noe som bidrar til en dypere forståelse av cellulære prosesser på molekylært nivå.

Organism Menneskelig

Tissue Bein

Disease Osteosarkom

Kjennetegn

Age 15 år

Gender Kvinne

Ethnicity Kaukasisk

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple-celler | 300461

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (Cytion-katalognummer 300461)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FK
Depositor	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Denne humane osteosarkomcellelinjen (U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple, klonen 16) inneholder en CRISPR-mediert NUP96-mMaple-fusjon som muliggjør fotokonvertibel merking av kjerneporestrukturer. Konstruktet er stabilt til stede. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Protein expression	NUP96-mMaple (endogent kjernepore-kompleks protein 96, mMaple-merket)
---------------------------	---

Håndtering

Culture Medium	McCoy's 5a, m: 3,0 g/L glukose, m: stabil glutamin, m: 2,0 mM natriumpyruvat, m: 2,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820200a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS, 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:3 til 1:6 anbefales
Seeding density	1 x 10 ⁴ celler/cm ²
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple-celler | 300461

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple-celler | 300461

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.