

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP-celler | 300174

Generell informasjon

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP er en genmodifisert cellelinje avledet fra den humane osteosarkomlinjen U-2 OS. Denne cellelinjen inneholder en målrettet innsetting av det monomere Enhanced Green Fluorescent Protein (mEGFP)-taggen ved NUP96-genet, oppnådd ved hjelp av CRISPR-Cas9-genredigeringsteknologien. NUP96, som er en del av kjerneporekomplekset, er essensielt for kjernetransport, og fusjonen med mEGFP gjør det mulig å visualisere kjerneporedynamikken i sanntid ved hjelp av fluorescerende mikroskopi, noe som gir verdifull innsikt i mekanismer for kjernetransport og nukleocytoplasmatisk trafficking.

Denne spesifikke klonen, nummer 195, er valgt ut på grunn av sitt stabile uttrykk av NUP96-mEGFP-fusjonsproteinet og opprettholder de typiske egenskapene til U-2 OS-linjen, inkludert en robust cytoskjelettstruktur som er avgjørende i studier knyttet til kreftcellemigrasjon og metastase. Bruken av CRISPR-teknologi sikrer presis genredigering, noe som minimerer off-target-effekter som kan svekke integriteten til de eksperimentelle resultatene. Dette gjør U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP klon nr. 195 spesielt nyttig for høyopløselige avbildningsteknikker og detaljerte studier av cellearkitektur, noe som bidrar til avansert forskning innen cellebiologi, kreftforskning og nukleære transportfenomener.

Organism

Menneskelig

Tissue

Bein

Disease

Osteosarkom

Kjennetegn

Age

15 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Epitel-lignende

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP klon nr. 195 (Cytion katalognummer 300174)

Biosafety level

1

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP-celler | 300174

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FJ**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Denne humane osteosarkomcellelinjen (U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP, klonen 195) inneholder en CRISPR-konstruert NUP96-mEGFP-fusjon introdusert via lentiviral levering, noe som muliggjør fluorescerende sporing av kjernepore-komplekser. Modifikasjonen er stabilt integrert. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Protein expression** MEGFP (kjernepore-kompleks-protein 96, mEGFP-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 NaHCO₃ (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 1:2 hver 2. til 3. dag anbefales. Kan oppbevares til 1 dag etter sammenflytning**Seeding density** 2 til 3 x 10⁴ celler/cm²**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optiming, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP-celler | 300174

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost 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 dyrkingsmedium. 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.

Shipping Conditions

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-mEGFP-celler | 300174

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.

STR-profil

PEZ6: CLS-354