

Celule U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461

Informații generale

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple este o linie celulară de osteosarcom modificată genetic, derivată din linia celulară umană U-2 OS, cunoscută pentru caracteristicile sale robuste de creștere și utilitate în diverse studii biologice. Această clonă specială a fost modificată cu ajutorul tehnologiei de editare genetică CRISPR/Cas9 pentru a încorpora mMaple, o proteină fluorescentă fotoconvertibilă, în gena NUP96. Proteina mMaple permite tehnici avansate de imagistică, cum ar fi imagistica celulelor vii și microscopia de superrezoluție, oferind o perspectivă dinamică asupra comportamentului complexului porilor nucleari (NPC) și a mecanismelor celulare de import-export prin învelișul nuclear.

Gena NUP96, care codifică o componentă esențială a NPC, este vitală pentru transportul nucleocitoplasmatic. Alterarea NUP96 poate afecta nu numai mecanismele de transport, ci și arhitectura și funcția nucleară generală. Prin urmare, această linie celulară servește drept model excelent pentru studierea patologiilor legate de NPC și a rolului transportului nuclear în metabolismul și semnalizarea celulară. Integrarea mMaple în NUP96 permite urmărirea și vizualizarea în timp real a dinamicii NUP96 in vivo, făcându-l un instrument indispensabil pentru cercetătorii axați pe studiul nucleului celular și pentru cei care explorează implicațiile disfuncțiilor NPC în boli precum cancerul și infecțiile virale.

Ca instrument specializat, clona U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple nr.16 susține imagistica de înaltă rezoluție și furnizează date substanțiale privind distribuția spațială și temporală a componentelor NPC. Este deosebit de valoroasă pentru experimentele care necesită o analiză detaliată a expresiei genelor, a localizării proteinelor și a transportului nuclear în condiții fiziologice și patologice, facilitând o înțelegere mai profundă a proceselor celulare la nivel molecular.

Organism Om

Tissue Os

Disease Osteosarcom

Caracteristici

Age 15 ani

Gender Femei

Ethnicity Caucazian

Growth properties Aderent

Date de reglementare

Celule U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (număr de catalog Cytion 300461)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FK
Depositor	Laboratorul Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Această linie celulară de osteosarcom uman (U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple, clona 16) conține o fuziune NUP96-mMaple mediată de CRISPR care permite marcarea fotoconvertibilă a structurilor porilor nucleari. Construcția este prezentă în mod stabil. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte părți.

Date biomoleculare

Protein expression	NUP96-mMaple (proteina endogenă 96 a complexului porilor nucleari, marcată cu mMaple)
---------------------------	---

Manipulare

Culture Medium	McCoy's 5a, cu: 3,0 g/L glucoză, cu: glutamină stabilă, cu: 2,0 mM piruvat de sodiu, cu: 2,2 g/L NaHCO ₃ (numărul articolului Cytion 820200a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS, 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
Seeding density	1×10^4 celule/cm ²
Fluid renewal	de 2 până la 3 ori pe săptămână

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

Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Linii celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.