

Celule U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

Informații generale

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP este o linie celulară modificată genetic derivată din linia parentală de osteosarcom uman U-2 OS. Această linie celulară încorporează o inserție țintită a proteinei fluorescente verzi îmbunătățite monomerică (mEGFP) în locusul genei NUP96, realizată prin tehnologia de editare a genei CRISPR-Cas9. NUP96, care face parte din complexul porilor nucleari, este esențial pentru transportul nuclear, iar fuziunea sa cu mEGFP permite vizualizarea în timp real a dinamicii porilor nucleari prin microscopie fluorescentă, oferind informații valoroase privind mecanismele de transport nuclear și traficul nucleocitoplasmatic.

Această clonă specifică, numerotată 195, a fost selectată pentru expresia sa stabilă a proteinei de fuziune NUP96-mEGFP și menține caracteristicile tipice ale liniei OS U-2, inclusiv o structură citoscheletală robustă, care este esențială în studiile legate de migrația și metastaza celulelor canceroase. Aplicarea tehnologiei CRISPR asigură editarea precisă a genelor, minimizând efectele off-target care ar putea compromite integritatea rezultatelor experimentale. Acest lucru face ca clona U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP nr. 195 să fie deosebit de utilă pentru tehnicile de imagistică de înaltă rezoluție și pentru studiile detaliate privind arhitectura celulară, contribuind la cercetarea avansată în domeniul biologiei celulare, cercetării cancerului și fenomenelor de transport nuclear.

Organism Om

Tissue Os

Disease Osteosarcom

Caracteristici

Age 15 ani

Gender Femei

Ethnicity Caucazian

Morphology De tip epitelial

Growth properties Aderent

Date de reglementare

Citation U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP clona nr. 195 (număr de catalog Cytion 300174)

Celule U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FJ**Depositor** Laboratorul Ellenberg (EMBL)**GMO Status** OMG-S1: Această linie celulară de osteosarcom uman (U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP, clona 195) conține o fuziune NUP96-mEGFP modificată prin CRISPR, introdusă prin livrare lentivirală, care permite urmărirea fluorescență a complexelor de pori nucleari. Modificarea este integrată stabil. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.**Date biomoleculare****Protein expression** MEGFP (proteina 96 a complexului porilor nucleari, marcată cu MEGFP)**Manipulare****Culture Medium** McCoys 5a, cu: 3,0 g/L glucoză, cu: glutamină stabilă, cu: 2,0 mM piruvat de sodiu, cu: 2,2 g/L NaHCO₃ (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** 2 până la 3×10^4 cel^{ule}/cm²**Fluid renewal** de 2 până la 3 ori pe săptămână**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.

Celule U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174**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% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

**Freezing
Procedure**

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.

**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.

Celule U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

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.