

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple-celler | 300461

Allmän information

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple är en genetiskt modifierad osteosarkomcellinje som härrör från den humana U-2 OS-cellinjen, känd för sina robusta tillväxtegenskaper och användbarhet i olika biologiska studier. Denna speciella klon har modifierats med hjälp av CRISPR/Cas9-genredigeringsteknik för att införliva mMaple, ett fotokonvertibelt fluorescerande protein, i NUP96-genen. Proteinet mMaple möjliggör avancerade avbildningstekniker såsom avbildning av levande celler och superupplösningsmikroskopi, vilket ger dynamiska insikter i kärnporskomplexets (NPC) beteende och cellulära import- och exportmekanismer genom kärnhöljet.

NUP96-genen, som kodar för en viktig komponent i NPC, är avgörande för nukleocytoplasmisk transport. Förändringar i NUP96 kan påverka inte bara transportmekanismerna utan även kärnans övergripande arkitektur och funktion. Denna cellinje fungerar därför som en utmärkt modell för att studera NPC-relaterade patologier och kärntransportens roll i cellulär metabolism och signalering. Integreringen av mMaple i NUP96 möjliggör spårning och visualisering i realtid av NUP96-dynamiken in vivo, vilket gör den till ett outhärligt verktyg för forskare som fokuserar på studier av cellkärnor och för dem som utforskar konsekvenserna av NPC-dysfunktioner i sjukdomar som cancer och virusinfektioner.

Som ett specialiserat verktyg stöder U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple clone no.16 högupplöst bildbehandling och ger betydande data om den rumsliga och tidsmässiga fördelningen av NPC-komponenter. Den är särskilt värdefull för experiment som kräver detaljerad analys av genuttryck, proteinlokalisering och kärntransport under fysiologiska och patologiska förhållanden, vilket underlättar en djupare förståelse av cellulära processer på molekylär nivå.

Organism Människan

Tissue Ben

Disease Osteosarkom

Egenskaper

Age 15 år

Gender Kvinna

Ethnicity Kaukasisk

Growth properties Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (Cytion katalognummer 300461)

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple-celler | 300461

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FK**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Denna mänskliga osteosarkomcellinje (U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple, klon 16) innehåller en CRISPR-medierad NUP96-mMaple-fusion som möjliggör fotokonvertibel märkning av kärnporstrukturer. Konstruktionen är stabilt närvarande. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.**Biomolekylära data****Protein expression** NUP96-mMaple (endogent kärnporskomplexprotein 96, mMaple-märkt)**Hantering****Culture Medium** McCoy's 5a, w: 3,0 g/L Glukos, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820200a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS, 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.**Split ratio** Ett förhållande på 1:3 till 1:6 rekommenderas**Seeding density** 1×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka

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

Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfrost vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeskuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturlådor; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple-celler | 300461

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.