

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP-celler | 300174

Allmän information

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP är en genetiskt modifierad cellinje som härrör från den mänskliga osteosarkom U-2 OS-föräldralinjen. Denna cellinje innehåller ett riktat införande av taggen mEGFP (monomeric Enhanced Green Fluorescent Protein) vid NUP96-genens lokus, vilket åstadkommit genom CRISPR-Cas9-genredigeringstekniken. NUP96, en del av kärnporkomplexet, är avgörande för kärntransport, och dess fusion med mEGFP möjliggör visualisering i realtid av kärnporens dynamik under fluorescerande mikroskopi, vilket ger värdefulla insikter i kärntransportmekanismer och nukleocytoplasmisk handel.

Denna specifika klon, numrerad 195, har valts ut för sitt stabila uttryck av NUP96-mEGFP-fusionsproteinet och bibehåller de typiska egenskaperna hos U-2 OS-linjen, inklusive en robust cytoskelettstruktur som är kritisk i studier relaterade till cancercellers migration och metastasering. Tillämpningen av CRISPR-teknik säkerställer exakt genredigering och minimerar effekter utanför målet som skulle kunna äventyra integriteten i de experimentella resultaten. Detta gör U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP clone no.195 särskilt användbar för högupplösta avbildningstekniker och detaljerade studier av cellulär arkitektur, vilket underlättar avancerad forskning inom cellbiologi, cancerforskning och nukleära transportfenomen.

Organism Människan

Tissue Ben

Disease Osteosarkom

Egenskaper

Age 15 år

Gender Kvinna

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Epitelliknande

Growth properties Följsam

Lagstadgade uppgifter

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: Denna mänskliga osteosarkomcellinje (U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP, klon 195) innehåller en CRISPR-konstruerad NUP96-mEGFP-fusion som introducerats via lentiviral leverans, vilket möjliggör fluorescerande spårning av kärnporskomplex. Modifieringen är stabilt integrerad. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.

Biomolekylära data

Protein expression	MEGFP (kärnporskomplexprotein 96, mEGFP-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 NaHCO ₃ (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 1:2 varannan till var tredje dag rekommenderas. Kan förvaras till 1 dag efter sammanflödet
Seeding density	2 till 3×10^4 celler/cm ²
Fluid renewal	2 till 3 gånger per vecka

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP-celler | 300174**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 djupfrysad 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-kulturkanter; 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-mEGFP-celler | 300174

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.

STR-profil

PEZ6: CLS-354