

Celice U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461

Splošne informacije

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple je gensko spremenjena celična linija osteosarkoma, ki izhaja iz človeške celične linije U-2 OS, znane po svojih močnih rastnih lastnostih in uporabnosti v različnih bioloških študijah. Ta klon je bil spremenjen s tehnologijo za urejanje genov CRISPR/Cas9 tako, da je v gen NUP96 vgrajen mMaple, fotokonvertibilni fluorescenčni protein. Beljakovina mMaple omogoča napredne tehnike slikanja, kot sta slikanje živih celic in mikroskopija s superresolucijo, kar omogoča dinamičen vpogled v obnašanje kompleksa jedrnih por (NPC) in mehanizme celičnega uvoza in izvoza skozi jedro ovojnice.

Gen NUP96, ki kodira ključno komponento NPC, je bistvenega pomena za nukleocitoplazemski transport. Spremembe v NUP96 lahko vplivajo ne le na transportne mehanizme, temveč tudi na celotno zgradbo in delovanje jedra. Ta celična linija tako služi kot odličen model za preučevanje patologij, povezanih z NPC, in vloge jedrnega transporta pri celičnem metabolizmu in signalizaciji. Integracija mMaple v NUP96 omogoča sledenje in vizualizacijo dinamike NUP96 v realnem času in vivo, zato je nepogrešljivo orodje za raziskovalce, ki se ukvarjajo s preučevanjem celičnega jedra, in tiste, ki raziskujejo posledice motenj v delovanju NPC pri boleznih, kot so rak in virusne okužbe.

Kot specializirano orodje U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple klon št. 16 podpira slikanje z visoko ločljivostjo in zagotavlja pomembne podatke o prostorski in časovni porazdelitvi komponent NPC. Posebej dragocen je za poskuse, ki zahtevajo podrobno analizo izražanja genov, lokalizacije beljakovin in jedrnega transporta v fizioloških in patoloških pogojih, kar omogoča globlje razumevanje celičnih procesov na molekularni ravni.

Organism	Človek
Tissue	Kosti
Disease	Osteosarkom

Značilnosti

Age	15 let
Gender	Ženske
Ethnicity	Kavkaški
Growth properties	Pripadajoče

Regulativni podatki

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

Celice U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FK**Depositor** Laboratorij Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ta celična linija človeškega osteosarkoma (U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple, klon 16) vsebuje s CRISPR posredovano fuzijo NUP96-mMaple, ki omogoča fotokonvertibilno označevanje struktur jedrnih por. Konstrukt je stabilno prisoten. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.**Biomolekularni podatki****Protein expression** NUP96-mMaple (endogeni protein kompleksa jedrskih por 96, označen z mMaple)**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/L glukoze, w: stabilen glutamin, w: 2,0 mM natrijevega piruvata, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820200a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS, 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Seeding density** 1×10^4 celic/cm²**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogska številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.