

Celice U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

Splošne informacije

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP je gensko spremenjena celična linija, ki izhaja iz matične linije človeškega osteosarkoma U-2 OS. Ta celična linija vključuje ciljno vstavev oznake monomernega izboljšane zelenega fluorescentnega proteina (mEGFP) na lokus gena NUP96, kar je bilo doseženo s tehnologijo genskega urejanja CRISPR-Cas9. NUP96, ki je del kompleksa jedrskih por, je bistvenega pomena za jedrski transport, njegova fuzija z mEGFP pa omogoča vizualizacijo dinamike jedrskih por pod fluorescenčnim mikroskopom v realnem času, kar zagotavlja dragocen vpogled v mehanizme jedrskega transporta in nukleocitoplazemskega prometa.

Ta posebni klon, oštevilčen s številko 195, je bil izbran zaradi stabilnega izražanja fuzijskega proteina NUP96-mEGFP in ohranja tipične značilnosti linije U-2 OS, vključno z močno citoskeletno strukturo, ki je ključna pri študijah, povezanih z migracijo in metastaziranjem rakavih celic. Uporaba tehnologije CRISPR zagotavlja natančno urejanje genov in zmanjšuje učinke izven cilja, ki bi lahko ogrozili celovitost rezultatov poskusov. Zato je klon U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP št. 195 še posebej uporaben za tehnike slikanja z visoko ločljivostjo in podrobne študije celične arhitekture, kar pomaga pri naprednih raziskavah na področju celične biologije, raziskav raka in pojavov jedrskega transporta.

Organism Človek

Tissue Kosti

Disease Osteosarkom

Značilnosti

Age 15 let

Gender Ženske

Ethnicity Kavkaški

Morphology Epitelijam podobni

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP klon št. 195 (številka kataloga Cytion 300174)

Biosafety level 1

Celice U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FJ**Depositor** Laboratorij Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GSO-S1: Ta celična linija človeškega osteosarkoma (U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP, klon 195) vsebuje s CRISPR-izvedeno fuzijo NUP96-mEGFP, vneseno z lentivirusnim prenosom, ki omogoča fluorescenčno sledenje kompleksov jedrnih por. Modifikacija je stabilno integrirana. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.**Biomolekularni podatki****Protein expression** MEGFP (protein kompleksa jedrskih por 96, označen z mEGFP)**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. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Seeding density** 2 do 3×10^4 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 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

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 kriovial 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-mEGFP | 300174

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.