

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple Hücreleri | 300461

Genel bilgi

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple, sağlam büyüme özellikleri ve çeşitli biyolojik çalışmalardaki faydasıyla bilinen insan U-2 OS hücre hattından türetilmiş, genetik olarak tasarlanmış bir osteosarkom hücre hattıdır. Bu özel klon, CRISPR/Cas9 gen düzenleme teknolojisi kullanılarak NUP96 genine foto-dönüştürülebilir bir floresan protein olan mMaple'ı dahil etmek üzere modifiye edilmiştir. mMaple proteini, canlı hücre görüntüleme ve süper çözünürlüklü mikroskopi gibi gelişmiş görüntüleme tekniklerine izin vererek nükleer gözenek kompleksi (NPC) davranışı ve nükleer zarf yoluyla hücresel ithalat-ihracat mekanizmaları hakkında dinamik bilgiler sağlar.

NPC'nin önemli bir bileşenini kodlayan NUP96 geni, nükleositol plazmik taşıma için hayati öneme sahiptir. NUP96'nın değiştirilmesi sadece taşıma mekanizmalarını değil, aynı zamanda genel nükleer mimariyi ve işlevi de etkileyebilir. Bu nedenle bu hücre hattı, NPC ile ilişkili patolojileri ve nükleer taşımanın hücresel metabolizma ve sinyalizasyondaki rolünü incelemek için mükemmel bir model olarak hizmet eder. mMaple'in NUP96'ya entegrasyonu, NUP96 dinamiklerinin in vivo olarak gerçek zamanlı izlenmesine ve görselleştirilmesine izin vererek, hücre çekirdeği çalışmalarına odaklanan ve kanser ve viral enfeksiyonlar gibi hastalıklarda NPC işlev bozukluklarının etkilerini araştıran araştırmacılar için vazgeçilmez bir araç haline getirmektedir.

Özel bir araç olarak U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple klon no.16, yüksek çözünürlüklü görüntülemeyi destekler ve NPC bileşenlerinin uzamsal ve zamansal dağılımına ilişkin önemli veriler sağlar. Fizyolojik ve patolojik koşullar altında gen ifadesi, protein lokalizasyonu ve nükleer taşımanın ayrıntılı analizini gerektiren deneyler için özellikle değerlidir ve moleküler düzeyde hücresel süreçlerin daha derinlemesine anlaşılmasını kolaylaştırır.

Organism İnsan

Tissue Kemik

Disease Osteosarkom

Özellikler

Age 15 yıl

Gender Kadın

Ethnicity Kafkas

Growth properties Yapışık

Düzenleyici Veriler

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

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple Hücreleri | 300461**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FK**Depositor** Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Bu insan osteosarkom hücre hattı (U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple, klon 16), nükleer gözenek yapılarının fotokonvertibl etiketlenmesini sağlayan CRISPR aracılı bir NUP96-mMaple füzyonu içerir. Yapı stabil olarak mevcuttur. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.**Biyomoleküler Veriler****Protein expression** NUP96-mMaple (endojen nükleer gözenek kompleksi proteini 96, mMaple etiketli)**Elleçleme****Culture Medium** McCoys 5a, w: 3.0 g/L Glukoz, w: stabil Glutamin, w: 2.0 mM Sodyum piruvat, w: 2.2 g/L NaHCO₃ (Cytion makale numarası 820200a)**Supplements** Ortamı %10 FBS, %1 NEAA ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Seeding density** 1×10^4 hücre/cm²**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple Hücreleri | 300461**Thawing and
Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

**Freezing
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple Hücreleri | 300461

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.