

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP Hücreleri | 300174

Genel bilgi

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP, insan osteosarkomu U-2 OS ana hattından türetilen genetik olarak değiştirilmiş bir hücre hattıdır. Bu hücre hattı, CRISPR-Cas9 gen düzenleme teknolojisi ile elde edilen NUP96 gen lokusuna monomerik Geliştirilmiş Yeşil Floresan Protein (mEGFP) etiketinin hedefli bir şekilde eklenmesini içerir. Nükleer gözenek kompleksinin bir parçası olan NUP96, nükleer taşıma için gereklidir ve mEGFP ile füzyonu, floresan mikroskopu altında nükleer gözenek dinamiklerinin gerçek zamanlı olarak görselleştirilmesine olanak tanıyarak nükleer taşıma mekanizmaları ve nükleositoplazmik kaçakçılık hakkında değerli bilgiler sağlar.

Bu 195 numaralı spesifik klon, NUP96-mEGFP füzyon proteininin stabil ekspresyonu için seçilmiştir ve kanser hücresi göçü ve metastazı ile ilgili çalışmalarda kritik olan sağlam bir hücre iskeleti yapısı da dahil olmak üzere U-2 OS soyunun tipik özelliklerini korumaktadır. CRISPR teknolojisinin uygulanması, deneysel sonuçların bütünlüğünü tehlikeye atabilecek hedef dışı etkileri en aza indirerek hassas gen düzenlemesi sağlar. Bu da U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP klon no.195'i yüksek çözünürlüklü görüntüleme teknikleri ve ayrıntılı hücresel mimari çalışmaları için özellikle kullanışlı hale getirerek hücresel biyoloji, kanser araştırmaları ve nükleer taşıma olaylarında ileri araştırmalara yardımcı olmaktadır.

Organism

İnsan

Tissue

Kemik

Disease

Osteosarkom

Özellikler

Age

15 yıl

Gender

Kadın

Ethnicity

Kafkas

Morphology

Epitel benzeri

Growth properties

Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP klon no.195 (Cytion katalog numarası 300174)

Biosafety level

1

U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP Hücreleri | 300174

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FJ**Depositor** Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Bu insan osteosarkom hücre hattı (U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP, klon 195), nükleer gözenek komplekslerinin floresan takibini sağlayan lentiviral dağıtım yoluyla sunulan CRISPR mühendisliği ürünü bir NUP96-mEGFP füzyonu içerir. Modifikasyon kararlı bir şekilde entegre edilmiştir. Bu sınıflandırma sadece Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Protein expression MEGFP (nükleer gözenek kompleksi proteini 96, mEGFP 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** 2 ila 3×10^4 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-mEGFP Hücreleri | 300174**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 pelletini 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-mEGFP Hücreleri | 300174

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.