

Клітини клена U2OS-CRISPR-NUP96-m | 300461

Загальна інформація

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple - це генно-інженерна лінія клітин остеосаркоми, отримана на основі клітинної лінії людини U-2 OS, відомої своїми сильними ростовими характеристиками і корисністю в різних біологічних дослідженнях. Цей конкретний клон був модифікований за допомогою технології редагування генів CRISPR/Cas9 для включення mMaple, фотоконвертованого флуоресцентного білка, в ген NUP96. Білок mMaple дозволяє використовувати передові методи візуалізації, такі як візуалізація живих клітин та мікроскопія з надвисокою роздільною здатністю, забезпечуючи динамічне розуміння поведінки ядерно-порового комплексу (ЯПК) та механізмів клітинного імпорту-експорту через ядерну оболонку.

Ген NUP96, який кодує важливий компонент NPC, є життєво важливим для нуклеоцитоплазматичного транспорту. Зміна NUP96 може впливати не лише на транспортні механізми, але й на загальну ядерну архітектуру та функцію. Таким чином, ця клітинна лінія слугує чудовою моделлю для вивчення патологій, пов'язаних з NPC, а також ролі ядерного транспорту в клітинному метаболізмі та сигналізації. Інтеграція mMaple в NUP96 дозволяє відстежувати та візуалізувати динаміку NUP96 в реальному часі, що робить його незамінним інструментом для дослідників, які займаються вивченням клітинного ядра, а також тих, хто вивчає наслідки дисфункцій NPC при таких захворюваннях, як рак та вірусні інфекції.

Як спеціалізований інструмент, клон U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple №16 підтримує візуалізацію з високою роздільною здатністю та надає суттєві дані щодо просторового та часового розподілу компонентів NPC. Він особливо цінний для експериментів, що вимагають детального аналізу експресії генів, локалізації білків і ядерного транспорту за фізіологічних і патологічних умов, сприяючи глибшому розумінню клітинних процесів на молекулярному рівні.

Organism	Людина
Tissue	Кость
Disease	Остеосаркома

Характеристики

Age	15 років
Gender	Жінка
Ethnicity	Кавказець
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Клітини клена U2OS-CRISPR-NUP96-m | 300461

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (номер за каталогом Cytion 300461)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FK
Depositor	Лабораторія Елленберга (EMBL)
GMO Status	ГМО-S1: Клітинна лінія остеосаркоми людини (U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple, клон 16) містить CRISPR-опосередкований синтез NUP96-mMaple, що забезпечує фотоконвертоване маркування ядерних порових структур. Конструкція стабільно присутня. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнитися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Protein expression	NUP96-mMaple (ендогенний білок комплексу ядерних пор 96, мічений mMaple)
---------------------------	--

Обробка

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 г/л Глюкоза, w: стабільна Глютамін, w: 2,0 мМ Піруват натрію, w: 2,2 г/л NaHCO ₃ (Cytion article number 820200a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS, 1% NEAA
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Seeding density	1×10^4 клітин/см ²
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень

Клітини клена U2OS-CRISPR-NUP96-m | 300461

Freeze medium

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення криоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Hi

Клітини клена U2OS-CRISPR-NUP96-m | 300461

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.