

Клітини U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

Загальна інформація

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP - це генетично модифікована клітинна лінія, отримана з батьківської лінії остеосаркоми людини U-2 OS. Ця клітинна лінія включає цілеспрямовану вставку мономерної мітки Enhanced Green Fluorescent Protein (mEGFP) в локус гена NUP96, що досягається за допомогою технології редагування генів CRISPR-Cas9. NUP96, що входить до складу комплексу ядерних пор, необхідний для ядерного транспорту, а його злиття з mEGFP дозволяє візуалізувати динаміку ядерних пор у реальному часі за допомогою флуоресцентної мікроскопії, що дає цінну інформацію про механізми ядерного транспорту та нуклеоцитоплазматичний трафік.

Цей конкретний клон під номером 195 був відібраний завдяки стабільній експресії злитого білка NUP96-mEGFP і зберігає типові характеристики лінії U-2 OS, включаючи міцну цитоскелетну структуру, що є критично важливим для досліджень, пов'язаних з міграцією та метастазуванням ракових клітин. Застосування технології CRISPR забезпечує точне редагування генів, мінімізуючи нецільові ефекти, які можуть порушити цілісність результатів експериментів. Це робить клон U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP № 195 особливо корисним для методів візуалізації з високою роздільною здатністю та детального вивчення клітинної архітектури, що допомагає в передових дослідженнях клітинної біології, раку та явищ ядерного транспорту.

Organism	Людина
Tissue	Кость
Disease	Остеосаркома

Характеристики

Age	15 років
Gender	Жінка
Ethnicity	Кавказець
Morphology	Епітеліальноподібні
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP клон № 195 (номер у каталозі Cytion 300174)
-----------------	---

Клітини U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FJ**Depositor** Лабораторія Елленберга (EMBL)

GMO Status ГМО-S1: Ця лінія клітин остеосаркоми людини (U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP, клон 195) містить злиття NUP96-mEGFP, сконструйоване за допомогою CRISPR, введене за допомогою лентівірусної доставки, що дозволяє флуоресцентно відстежувати ядерні порові комплекси. Модифікація стабільно інтегрована. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Protein expression MEGFP (білок комплексу ядерних пор 96, мічений mEGFP)

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 NaHCO₃ (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 $2-3 \times 10^4$ клітин/см²**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень

Клітини U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174**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 U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

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, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.