Product sheet

Tế bào U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461

Thông tin chung

Description	Dòng tế bào ung thư xương U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple là một dòng tế bào ung thư xương được biến đổi gen, được phát triển từ dòng tế bào U-2 OS của người, nổi tiếng với đặc tính tăng trưởng mạnh mẽ và ứng dụng rộng rãi trong các nghiên cứu sinh học. Dòng tế bào này đã được sửa đổi bằng công nghệ chỉnh sửa gen CRISPR/Cas9 để tích hợp protein huỳnh quang có thể chuyển đổi ánh sáng mMaple vào gen NUP96. Protein mMaple cho phép sử dụng các kỹ thuật hình ảnh tiên tiến như hình ảnh tế bào sống và kính hiển vi siêu phân giải, cung cấp cái nhìn động về hành vi của phức hợp lỗ nhân (NPC) và cơ chế vận chuyển nhập-xuất tế bào qua màng nhân. Gen NUP96, mã hóa một thành phần quan trọng của NPC, là yếu tố thiết yếu cho vận chuyển nucleocytoplasmic. Sự biến đổi của NUP96 không chỉ ảnh hưởng đến các cơ chế vận chuyển mà còn đến cấu trúc và chức năng tổng thể của nhân. Do đó, dòng tế bào này là mô hình lý tưởng để nghiên cứu các bệnh lý liên quan đến NPC và vai trò của vận chuyển nhân trong chuyển hóa và tín hiệu tế bào. Việc tích hợp mMaple vào NUP96 cho phép theo dõi và quan sát động học của NUP96 theo thời gian thực trong cơ thể sống, trở thành công cụ không thể thiếu cho các nhà nghiên cứu tập trung vào nghiên cứu nhân tế bào và những người khám phá tác động của rối loạn NPC trong các bệnh như ung thư và nhiễm virus. Với tư cách là một công cụ chuyên biệt, dòng tế bào U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple số 16 hỗ trợ hình ảnh có độ phân giải cao và cung cấp dữ liệu đáng kể về phân bố không gian và thời gian của các thành phần NPC. Nó đặc biệt hữu ích cho các thí nghiệm yêu cầu phân tích chi tiết về biểu hiện gen, vị trí protein và vận chuyển nhân trong điều kiện sinh lý và bệnh lý, giúp hiểu sâu hơn về các quá trình tế bào ở cấp độ phân tử.
Organism	Con người
Tissue	Xương
Disease	U xương

Đặc điểm

Age	15 năm
Gender	Nữ
Ethnicity	Người da trắng
Growth properties	Người tuân thủ

Dữ liệu quy định

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (Số catalog Cytion 300461)

Product sheet

Tế bào U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FK
Depositor	Phòng thí nghiệm Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Dòng tế bào ung thư xương người này (U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple, dòng 16) chứa một cấu trúc hợp nhất NUP96-mMaple được tạo ra bằng công nghệ CRISPR, cho phép đánh dấu quang chuyển đổi các cấu trúc lỗ nhân. Cấu trúc này được duy trì ổn định. Phân loại này chỉ áp dụng trong phạm vi Đức và có thể khác nhau ở các khu vực khác.

Dữ liệu sinh học phân tử

Protein expression	NUP96-mMaple (protein phức hợp lỗ hạt nhân nội sinh 96, được gắn nhãn mMaple)

Xử lý

Culture Medium	McCoys 5a, chứa: 3,0 g/L glucose, chứa: glutamine ổn định, chứa: 2,0 mM natri pyruvate, chứa: 2,2 g/L $NaHCO_3$ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820200a)
Supplements	Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 10% huyết thanh bò (FBS) và 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.
Seeding density	1×10^4 tế bào/cm^2
Fluid renewal	2 đến 3 lần mỗi tuần

Tế bào U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461

Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Thawing and Culturing Cells

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở 300 x g trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO_2}$, môi trường ẩm.
Flask Coating	Không có
Freezing Procedure	Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461

Shipping Conditions	Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.
Storage Conditions	Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng −150 đến −196 °C. Việc bảo quản ở −80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility	Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang. Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.