U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple

300461

ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

Описание

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple е генетично създадена клетъчна линия за остеосарком, получена от човешката клетъчна линия U-2 OS, известна със своите стабилни характеристики на растеж и полезност в различни биологични изследвания. Този конкретен клон е модифициран с помощта на технологията за редактиране на гени CRISPR/Cas9, за да се включи mMaple, фотоконвертируем флуоресцентен протеин, в гена NUP96. Протеинът mMaple позволява използването на усъвършенствани техники за изобразяване, като например изобразяване на живи клетки и микроскопия със суперразрешение, като осигурява динамичен поглед върху поведението на комплекса на ядрената пора (NPC) и механизмите за клетъчен внос и износ през ядрената обвивка.
Генът NUP96, който кодира ключов компонент на NPC, е жизненоважен за ядреноцитоплазмения транспорт. Промяната на NUP96 може да повлияе не само на транспортните механизми, но и на цялостната ядрена архитектура и функция. По този начин тази клетъчна линия служи като отличен модел за изучаване на патологиите, свързани с NPC, и ролята на ядрения транспорт в клетъчния метаболизъм и сигнализация. Интегрирането на mMaple в NUP96 позволява проследяване и визуализиране на динамиката на NUP96 в реално време in vivo, което го превръща в незаменим инструмент за изследователите, фокусирани върху проучвания на клетъчното ядро, и за тези, които изследват последиците от дисфункциите на NPC при заболявания като рак и вирусни инфекции.
Като специализиран инструмент U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple клонинг № 16 поддържа изображения с висока резолюция и предоставя съществени данни относно пространственото и времевото разпределение на компонентите на NPC. Той е особено ценен за експерименти, изискващи подробен анализ на генната експресия, локализацията на протеините и ядрения транспорт при физиологични и патологични условия, като улеснява по-дълбокото разбиране на клетъчните процеси на молекулярно ниво.

Тъкан	Bone
Заболяване	Остеосарком

КЛАСИФИКАЦИЯ

Организъм	Човек
Секс	Женски
Свойства, свързани с растежа	Привърженик
Статус на ГМО	GMO-S1

Подробности относно статуса на ГМО

GMO-S1: This human osteosarcoma cell line (U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple, clone 16) contains a CRISPR-mediated NUP96-mMaple fusion enabling photoconvertible labeling of nuclear pore structures. The construct is stably present. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Ниво на биологична безопасност	1

ИДЕНТИФИКАТОРИ

Източник

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (каталожен номер 300461 на Cytion)

Данъчен идентификационен номер в NCBI	9606
Целозавър	CVCL_B7FK

Вложител	Лабораторията на Елънбърг (EMBL)

ПРОЯВА И ПРЕДРАЗПОЛОЖЕНОСТ

Експресия на протеини

NUP96-mMaple (ендогенен протеин на ядрения порен комплекс 96, маркиран с mMaple)

ОБРАБОТКА И ОТГЛЕЖДАНЕ

Хранителна среда

McCoys 5a, w: 3,0 g/L глюкоза, w: стабилен глутамин, w: 2,0 mM натриев пируват, w: 2,2 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820200a)

Атмосфера за инкубация	37°C, 5%CO2, овлажнена атмосфера.

Добавки

Допълнете средата с 10% FBS, 1% NEAA

Реагент за дисоциация	Accutase

Пресаждане

Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Плътност на засяването	1 x 10^4 клетки/cm^2
Обновяване на течността	2 до 3 пъти седмично

Размразяване и култивиране

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО И КРИОКОНСЕРВАЦИЯ

Стерилност

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.
За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

Среда за замразяване	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Условия за съхранение

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Условия за доставка

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

ДАРИТЕЛ

Възраст на донора	15 години
Етническа принадлежност	Кавказки

ПРАВНИ ВЪПРОСИ И БЕЗОПАСНОСТ

Мерки за безопасност

Когато планирате да съхранявате криопрепарат в течен азот за бъдещо размразяване, е задължително да спазвате строги мерки за безопасност. Подходящите защитни ръкавици и облекло са от съществено значение, а по време на прехвърлянето на замразени проби към или от резервоара с течен азот е необходимо да се използва маска за лице или предпазни очила. Това се прави, за да се намали рискът от нараняване от потенциални експлозии на криовиолите при изваждането им, които могат да доведат до изхвърляне на остри фрагменти.

Гаранция

Ние в Cytion заставаме зад качеството и жизнеспособността на нашите продукти.
Гарантираме, че нашите клетки ще бъдат жизнеспособни в началото на култивирането в продължение на 60 дни след изпращането им от нашите съоръжения.
Гарантираме, че всички материали отговарят на спецификациите, описани в сертификата за анализ и/или продуктовата листа
За пълни подробности, моля, направете справка с нашата <a href=""/Кои сме ние/Гаранция/"" hreflang=""x-default"">Гаранционна декларация

Прилагат се споразумения с трети страни	Yes