U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple

300461

GENERELLE OPLYSNINGER

Beskrivelse

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple er en genetisk konstrueret osteosarkomcellelinje, der stammer fra den humane U-2 OS-cellelinje, som er kendt for sine robuste vækstegenskaber og anvendelighed i forskellige biologiske undersøgelser. Denne særlige klon er blevet modificeret ved hjælp af CRISPR/Cas9-genredigeringsteknologi for at inkorporere mMaple, et fotokonvertibelt fluorescerende protein, i NUP96-genet. MMaple-proteinet giver mulighed for avancerede billeddannelsesteknikker som levende cellebilleder og superopløsningsmikroskopi, hvilket giver dynamisk indsigt i kerneporekompleksets (NPC) opførsel og cellulære import-eksportmekanismer gennem kernehylsteret.
NUP96-genet, som koder for en vigtig komponent i NPC, er afgørende for nukleocytoplasmatisk transport. Ændringer i NUP96 kan ikke kun påvirke transportmekanismerne, men også den overordnede nukleare arkitektur og funktion. Denne cellelinje fungerer således som en fremragende model til at studere NPC-relaterede patologier og den rolle, som nuklear transport spiller i cellulær metabolisme og signalering. Integrationen af mMaple i NUP96 tillader realtidssporing og visualisering af NUP96-dynamik in vivo, hvilket gør det til et uundværligt værktøj for forskere med fokus på studier af cellekerner og dem, der undersøger konsekvenserne af NPC-dysfunktioner i sygdomme som kræft og virusinfektioner.
Som et specialiseret værktøj understøtter U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple klon nr. 16 billeddannelse i høj opløsning og giver betydelige data om den rumlige og tidsmæssige fordeling af NPC-komponenter. Det er især værdifuldt til eksperimenter, der kræver detaljeret analyse af genekspression, proteinlokalisering og nuklear transport under fysiologiske og patologiske forhold, hvilket letter en dybere forståelse af cellulære processer på molekylært niveau.

Væv	Knogle
Sygdom	Osteosarkom

KLASSIFICERING

Organisme	Menneske
Køn	Kvinde
Vækstegenskaber	Tilhænger
GMO-status	GMO-S1

Oplysninger om GMO-status

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.

Biosikkerhedsniveau	1

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (Cytion katalognummer 300461)

NCBI-skattenummer	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FK
Indskyder	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

UDTRYK OG MODTAGELIGHED

Proteinekspression

NUP96-mMaple (endogent kerneporekompleks-protein 96, mMaple-mærket)

HÅNDTERING OG OPDRÆT

Næringsmedium

McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glukose, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820200a)

Inkubationsatmosfære	37°C, 5%CO2, befugtet atmosfære.

Kosttilskud

Suppler mediet med 10% FBS, 1% NEAA

Dissociationsreagens	Accutase

Oddyrkning

Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Såtæthed	1 x 10^4 celler/cm^2
Væskeudskiftning	2 til 3 gange om ugen

Optøning og dyrkning

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.

KVALITETSKONTROL OG KRYOPRÆSERVERING

Sterilitet

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

Frysemedium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Opbevaringsbetingelser

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Leveringsbetingelser

Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

DONOR

Donorens alder	15 år
Etnisk tilhørsforhold	Kaukasisk

JURIDISKE FORHOLD OG SIKKERHED

Sikkerhedsforanstaltninger

Når man planlægger at opbevare et kryovæske i flydende nitrogen med henblik på fremtidig optøning, er det obligatorisk at overholde strenge sikkerhedsforanstaltninger. Passende beskyttelseshandsker og -tøj er afgørende, og der skal bruges ansigtsmaske eller sikkerhedsbriller under overførslen af frosne prøver til eller fra tanken med flydende nitrogen. Dette er for at mindske risikoen for skader fra potentielle kryovæskeeksplosioner ved fjernelse, som kan resultere i projektion af skarpe fragmenter.

Garanti

Hos Cytion står vi inde for vores produkters kvalitet og levedygtighed.
Vi garanterer, at vores celler vil være levedygtige ved kulturens start i 60 dage efter afsendelse fra vores faciliteter.
Vi sikrer, at alle materialer er i overensstemmelse med de specifikationer, der er beskrevet i analysecertifikatet og/eller produktarket
For alle detaljer henvises til vores <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Der gælder aftaler med tredjeparter	Yes