U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple

300461

ALLGEMEINE INFORMATIONEN

Beschreibung

Die U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple ist eine gentechnisch veränderte Osteosarkom-Zelllinie, die von der menschlichen U-2 OS-Zelllinie abgeleitet ist, die für ihre robusten Wachstumseigenschaften und ihre Nützlichkeit in verschiedenen biologischen Studien bekannt ist. Dieser spezielle Klon wurde mit Hilfe der CRISPR/Cas9-Gene Editing-Technologie so verändert, dass mMaple, ein photokonvertierbares fluoreszierendes Protein, in das NUP96-Gen eingebaut wurde. Das mMaple-Protein ermöglicht fortschrittliche Bildgebungstechniken wie Live-Cell-Imaging und Super-Resolution-Mikroskopie, die dynamische Einblicke in das Verhalten des Kernporenkomplexes (NPC) und die zellulären Import- und Exportmechanismen durch die Kernhülle ermöglichen.
Das NUP96-Gen, das für eine entscheidende Komponente des NPC kodiert, ist für den nukleozytoplasmatischen Transport unerlässlich. Eine Veränderung von NUP96 kann nicht nur die Transportmechanismen, sondern auch die gesamte Kernarchitektur und -funktion beeinträchtigen. Diese Zelllinie ist daher ein hervorragendes Modell für die Untersuchung von NPC-bezogenen Pathologien und der Rolle des Kerntransports im zellulären Stoffwechsel und in der Signalübertragung. Die Integration von mMaple in NUP96 ermöglicht die Echtzeitverfolgung und Visualisierung der NUP96-Dynamik in vivo und macht es zu einem unverzichtbaren Werkzeug für Forscher, die sich mit Zellkernstudien befassen und die die Auswirkungen von NPC-Funktionsstörungen bei Krankheiten wie Krebs und Virusinfektionen untersuchen.
Als spezialisiertes Werkzeug unterstützt der U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple-Klon Nr. 16 hochauflösende Bildgebung und liefert umfangreiche Daten zur räumlichen und zeitlichen Verteilung von NPC-Komponenten. Er ist besonders wertvoll für Experimente, die eine detaillierte Analyse der Genexpression, der Proteinlokalisierung und des Kerntransports unter physiologischen und pathologischen Bedingungen erfordern, was ein tieferes Verständnis der zellulären Prozesse auf molekularer Ebene ermöglicht.

Gewebe	Knochen
Krankheit	Osteosarkom

KLASSIFIZIERUNG

Organismus	Mensch
Sex	Weiblich
Wachstumseigenschaften	Anhänger
GVO-Status	GMO-S1

Angaben zum GVO-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.

Biologische Sicherheitsstufe	1

BEZEICHNER

Quellenangabe

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

NCBI-Steuer-ID	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FK
Einleger	Das Ellenberg-Labor (EMBL)

EXPRESSION UND ANFÄLLIGKEIT

Proteinexpression

NUP96-mMaple (endogenes Kernporenkomplex-Protein 96, mMaple-markiert)

HANDHABUNG UND KULTUR

Nährmedium

McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glucose, w: stabiles Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO3 (Cytion-Artikelnummer 820200a)

Inkubationsatmosphäre	37°C, 5%CO2, befeuchtete Atmosphäre.

Nahrungsergänzungsmittel

Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS, 1% NEAA

Dissoziationsreagenz	Accutase

Subkultivierung

Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Aussaatdichte	1 x 10^4 Zellen/cm^2
Flüssigkeitswechsel	2 bis 3 Mal pro Woche

Auftauen und Kultivierung

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.

QUALITÄTSKONTROLLE UND KRYOKONSERVIERUNG

Sterilität

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.
Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

Gefriermedium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Lagerbedingungen

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Versandbedingungen

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

SPENDER

Alter des Spenders	15 Jahre
Ethnische Zugehörigkeit	Kaukasisch

RECHTLICHES UND SICHERHEIT

Sicherheitshinweise

Wenn Sie planen, ein Kryovial in flüssigem Stickstoff zu lagern, um es später aufzutauen, müssen Sie strenge Sicherheitsmaßnahmen einhalten. Geeignete Schutzhandschuhe und -kleidung sind unerlässlich, und beim Transfer der gefrorenen Proben in den oder aus dem Flüssigstickstofftank ist das Tragen einer Gesichtsmaske oder einer Schutzbrille erforderlich. Damit soll die Verletzungsgefahr durch mögliche Explosionen der Kryovials bei der Entnahme, die zum Herausschleudern von scharfen Fragmenten führen können, verringert werden.

Garantie

Bei Cytion stehen wir hinter der Qualität und Lebensfähigkeit unserer Produkte.
Wir garantieren, dass unsere Zellen zu Beginn der Kultur für 60 Tage nach dem Versand aus unseren Einrichtungen lebensfähig sind.
Wir versichern, dass alle Materialien mit den im Analysezertifikat und/oder Produktblatt beschriebenen Spezifikationen übereinstimmen
Ausführliche Informationen finden Sie in unserer <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantieerklärung

Es gelten Vereinbarungen mit Dritten	Yes