U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple

300461

ÜLDINE TEAVE

Kirjeldus

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple on geneetiliselt muundatud osteosarkoomi rakuliin, mis on saadud inimese U-2 OS rakuliinist, mis on tuntud oma tugevate kasvuomaduste ja kasulikkuse poolest erinevates bioloogilistes uuringutes. Seda konkreetset klooni on muudetud CRISPR/Cas9 geenitöötlustehnoloogia abil, et lisada NUP96 geenile mMaple, mis on fotokonverteeritav fluorestseeruv valk. Valk mMaple võimaldab kasutada täiustatud pildistamismeetodeid, nagu elusraku pildistamine ja superresolutsioonimikroskopeerimine, andes dünaamilise ülevaate tuumapoorikompleksi (NPC) käitumisest ja raku impordi-ekspordimehhanismidest läbi tuumakesta.
NUP96 geen, mis kodeerib NPC olulist komponenti, on oluline nukleotsütoplasma transpordiks. NUP96 muutmine võib mõjutada mitte ainult transpordimehhanisme, vaid ka üldist tuumaarhitektuuri ja -funktsiooni. Seega on see rakuliin suurepärane mudel NPCga seotud patoloogiate ja tuuma transpordi rolli uurimiseks raku metabolismis ja signaalimisel. MMaple integreerimine NUP96-sse võimaldab NUP96 dünaamika reaalajas jälgimist ja visualiseerimist in vivo, muutes selle asendamatuks vahendiks rakutuuma uuringutele keskendunud teadlastele ja neile, kes uurivad NPC düsfunktsioonide mõju sellistes haigustes nagu vähk ja viirusinfektsioonid.
Spetsiaalse vahendina toetab U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple kloon nr.16 kõrge eraldusvõimega pildistamist ja annab olulisi andmeid NPC komponentide ruumilise ja ajalise jaotumise kohta. See on eriti väärtuslik katsete jaoks, mis nõuavad geenikspressiooni, valkude lokaliseerimise ja tuuma transpordi üksikasjalikku analüüsi füsioloogilistes ja patoloogilistes tingimustes, hõlbustades rakuliste protsesside sügavamat mõistmist molekulaarsel tasandil.

Kude	Bone
Haigus	Osteosarkoom

KLASSIFIKATSIOON

Organism	Inimene
Sugu	Naine
Kasvuvõime	Järgija
GMO-staatus	GMO-S1

GMO-staatuse üksikasjad

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.

Bioloogilise ohutuse tase	1

TUNNUSED

Viide

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (Cytioni kataloginumber 300461)

NCBI maksukood	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FK
Hoiustaja	Ellenbergi labor (EMBL)

AVALDUMINE JA VASTUVÕTLIKKUS

Valgu ekspressioon

NUP96-mMaple (endogeenne tuumapoorikompleksi valk 96, mMaple-märgistatud)

KÄSITLEMINE JA KASVATAMINE

Kasvatuskeskkond

McCoys 5a, w: 3,0 g/L glükoos, w: stabiilne glutamiin, w: 2,0 mM naatriumpüruvaat, w: 2,2 g/L NaHCO3 (Cytioni artikli number 820200a)

Inkubatsiooni keskkond	37°C, 5%CO2, niisutatud atmosfäär.

Toidulisandid

Täiendada söötme 10% FBS-ga, 1% NEAA-ga

Dissotsiatsioonireaktiiv	Accutase

Kultuuri edasikasvatamine

Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Külvitihedus	1 x 10^4 rakku/cm^2
Vedeliku vahetus	2 kuni 3 korda nädalas

Sulatamine ja kasvatamine

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.

KVALITEEDIKONTROLL JA KRÜOKONSERVEERIMINE

Viljatus

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.
Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

Külmutuskeskkond	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Säilitamistingimused

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

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

Tarne- ja kohaletoimetamistingimused

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

ANNETAJA

Doonori vanus	15 aastat
Etniline kuuluvus	Kaukaasia

ÕIGUSLIKUD JA OHUTUSALASED KÜSIMUSED

Ohutusnõuded

Kui plaanitakse krüoviaalide säilitamist vedelas lämmastikus tulevase sulatamise eesmärgil, on kohustuslik järgida rangeid ohutusmeetmeid. Asjakohased kaitsekindad ja -riietus on hädavajalikud ning külmutatud proovide vedela lämmastiku mahutisse või mahutist väljaviimisel tuleb kasutada näomaski või kaitseprille. See on vajalik selleks, et vähendada vigastuste ohtu, mis tuleneb võimalikest krüoviaalide plahvatustest eemaldamisel, mille tagajärjel võivad välja paiskuda teravad killud.

Garantii

Cytion seisab oma toodete kvaliteedi ja elujõulisuse eest.
Me garanteerime, et meie rakud on elujõulised kasvatamise alguses 60 päeva jooksul pärast meie rajatistest saatmist.
Tagame, et kõik materjalid vastavad analüüsisertifikaadis ja/või tootelehel kirjeldatud spetsifikatsioonidele
Täielikke üksikasju leiate meie <a href="""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang="""x-default"">Tagatise avaldusest

Kehtivad kolmandate osapooltega sõlmitud lepingud	Yes