U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple

300461

INFORMASI UMUM

Deskripsi

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple adalah garis sel osteosarkoma yang direkayasa secara genetik yang berasal dari garis sel U-2 OS manusia, yang dikenal karena karakteristik pertumbuhannya yang kuat dan kegunaannya dalam berbagai penelitian biologis. Klon khusus ini telah dimodifikasi menggunakan teknologi pengeditan gen CRISPR/Cas9 untuk memasukkan mMaple, protein fluoresen yang dapat dikonversi, ke dalam gen NUP96. Protein mMaple memungkinkan teknik pencitraan canggih seperti pencitraan sel hidup dan mikroskop resolusi tinggi, memberikan wawasan dinamis ke dalam perilaku kompleks pori nuklir (NPC) dan mekanisme ekspor-impor seluler melalui selubung nuklir.
Gen NUP96, yang mengkodekan komponen penting dari NPC, sangat penting untuk transportasi nukleositoplasma. Perubahan NUP96 tidak hanya dapat mempengaruhi mekanisme transpor tetapi juga arsitektur dan fungsi nuklir secara keseluruhan. Oleh karena itu, garis sel ini berfungsi sebagai model yang sangat baik untuk mempelajari patologi terkait NPC dan peran transpor nuklir dalam metabolisme dan pensinyalan seluler. Integrasi mMaple ke dalam NUP96 memungkinkan pelacakan waktu nyata dan visualisasi dinamika NUP96 secara in vivo, menjadikannya alat yang sangat diperlukan bagi para peneliti yang berfokus pada studi inti sel dan mereka yang mengeksplorasi implikasi disfungsi NPC pada penyakit seperti kanker dan infeksi virus.
Sebagai alat khusus, klon U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple no.16 mendukung pencitraan resolusi tinggi dan menyediakan data substansial mengenai distribusi spasial dan temporal komponen NPC. Ini sangat berharga untuk eksperimen yang membutuhkan analisis terperinci tentang ekspresi gen, lokalisasi protein, dan transpor nuklir dalam kondisi fisiologis dan patologis, memfasilitasi pemahaman yang lebih dalam tentang proses seluler pada tingkat molekuler.

Tisu	Tulang
Penyakit	Osteosarkoma

KLASIFIKASI

Organisme	Manusia
Seks	Perempuan
Sifat-sifat pertumbuhan	Pengikut
Status GMO	GMO-S1

Rincian status GMO

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.

Tingkat keamanan hayati	1

PENGIDENTIFIKASI

Referensi

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (nomor katalog Cytion 300461)

Nomor Identifikasi Pajak NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FK
Nasabah penyimpanan	Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)

EKSPRESI DAN KERENTANAN

Ekspresi protein

NUP96-mMaple (protein kompleks pori nuklir endogen 96, ditandai dengan mMaple)

PENANGANAN DAN BUDIDAYA

Media kultur

McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glukosa, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natrium piruvat, w: 2,2 g/L NaHCO3 (Nomor artikel Cytion 820200a)

Suasana inkubasi	37°C, 5%CO2, atmosfer yang dilembabkan.

Suplemen

Lengkapi media dengan 10% FBS, 1% NEAA

Reagen disosiasi	Accutase

Perbanyakan sel

Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.

Kepadatan penanaman	1 x 10^4 sel/cm^2
Pergantian cairan	2 hingga 3 kali per minggu

Pencairan dan pembiakan

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.

PENGENDALIAN MUTU DAN KRIOPRESERVASI

Kemandulan

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.
Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.

Media pembekuan	Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Kondisi penyimpanan

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Ketentuan pengiriman

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

DONATUR

Usia donor	15 tahun
Etnis	Kaukasia

HUKUM DAN KESELAMATAN

Tindakan pencegahan keselamatan

Ketika berencana menyimpan kriovial dalam nitrogen cair untuk pencairan di masa mendatang, Anda wajib mematuhi langkah-langkah keamanan yang ketat. Sarung tangan dan pakaian pelindung yang tepat sangat penting, dan penggunaan masker wajah atau kacamata pengaman diperlukan selama pemindahan sampel beku ke atau dari tangki nitrogen cair. Hal ini untuk mengurangi risiko cedera akibat potensi ledakan cryovial pada saat pemindahan, yang dapat mengakibatkan proyeksi fragmen tajam.

Garansi

Di Cytion, kami mendukung kualitas dan kelangsungan hidup produk kami.
Kami menjamin bahwa sel kami akan dapat bertahan hidup pada awal kultur selama 60 hari setelah pengiriman dari fasilitas kami.
Kami menjamin bahwa semua bahan sesuai dengan spesifikasi yang dijelaskan dalam Sertifikat Analisis dan / atau Lembar Produk
Untuk detail lengkap, silakan merujuk ke <a href=""/Siapa-kami-Garansi/Garansi/"" hreflang=""x-default"">Pernyataan Jaminan kami

Berlaku ketentuan perjanjian pihak ketiga	Yes