U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple

300461

INFORMAZIONI GENERALI

Descrizione

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple è una linea cellulare di osteosarcoma geneticamente modificata derivata dalla linea cellulare umana U-2 OS, nota per le sue robuste caratteristiche di crescita e per la sua utilità in vari studi biologici. Questo particolare clone è stato modificato utilizzando la tecnologia di editing genico CRISPR/Cas9 per incorporare mMaple, una proteina fluorescente fotoconvertibile, nel gene NUP96. La proteina mMaple consente di utilizzare tecniche di imaging avanzate come l'imaging di cellule vive e la microscopia a super-risoluzione, fornendo approfondimenti dinamici sul comportamento del complesso del poro nucleare (NPC) e sui meccanismi di importazione ed esportazione delle cellule attraverso l'involucro nucleare.
Il gene NUP96, che codifica un componente cruciale della NPC, è fondamentale per il trasporto nucleocitoplasmatico. L'alterazione di NUP96 può influenzare non solo i meccanismi di trasporto, ma anche l'architettura e la funzione nucleare complessiva. Questa linea cellulare funge quindi da modello eccellente per studiare le patologie legate alla NPC e il ruolo del trasporto nucleare nel metabolismo e nella segnalazione cellulare. L'integrazione di mMaple in NUP96 consente il tracciamento e la visualizzazione in tempo reale delle dinamiche di NUP96, rendendolo uno strumento indispensabile per i ricercatori che si occupano di studi sul nucleo cellulare e per quelli che esplorano le implicazioni delle disfunzioni della NPC in malattie come il cancro e le infezioni virali.
Come strumento specializzato, il clone U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple n.16 supporta l'imaging ad alta risoluzione e fornisce dati sostanziali sulla distribuzione spaziale e temporale dei componenti della NPC. È particolarmente prezioso per gli esperimenti che richiedono un'analisi dettagliata dell'espressione genica, della localizzazione delle proteine e del trasporto nucleare in condizioni fisiologiche e patologiche, facilitando una comprensione più approfondita dei processi cellulari a livello molecolare.

Tessuto	Osso
Malattia	Osteosarcoma

CLASSIFICAZIONE

Organismo	Umano
Sesso	Donna
Proprietà di crescita	Aderente
Presenza di OGM	GMO-S1

Dettagli sullo stato degli OGM

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.

Livello di biosicurezza	1

IDENTIFICATORI

Riferimento bibliografico

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (numero di catalogo Cytion 300461)

Codice fiscale NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FK
Depositario	Il laboratorio Ellenberg (EMBL)

ESPRESSIONE E SUSCETTIBILITÀ

Espressione proteica

NUP96-mMaple (proteina 96 del complesso del poro nucleare endogeno, marcata mMaple)

MANIPOLAZIONE E COLTURA

Terreno di coltura

McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glucosio, w: Glutammina stabile, w: 2,0 mM Sodio piruvato, w: 2,2 g/L NaHCO3 (articolo Cytion numero 820200a)

Atmosfera di incubazione	37°C, 5%CO2, atmosfera umidificata.

Integratori

Integrare il terreno di coltura con 10% FBS, 1% NEAA

Reagente di dissociazione	Accutase

Subcoltura

Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Densità di semina	1 x 10^4 cellule/cm^2
Rinnovo dei fluidi	da 2 a 3 volte alla settimana

Scongelamento e coltura

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.

CONTROLLO DI QUALITÀ E CRIOCONSERVAZIONE

Sterilità

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.
Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Terreno di coltura congelato	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Condizioni di conservazione

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Condizioni di spedizione

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

DONATORE

Età dei donatori	15 anni
Etnia	Caucasico

ASPETTI LEGALI E DI SICUREZZA

Misure di sicurezza

Quando si prevede di conservare una crioviale in azoto liquido per un futuro scongelamento, è obbligatorio attenersi a rigorose misure di sicurezza. Guanti e indumenti protettivi appropriati sono essenziali e l'uso di una maschera facciale o di occhiali di sicurezza è richiesto durante il trasferimento dei campioni congelati da o verso il serbatoio di azoto liquido. Questo per ridurre il rischio di lesioni dovute a potenziali esplosioni di crioviali al momento della rimozione, che possono provocare la proiezione di frammenti taglienti.

Garanzia

Noi di Cytion garantiamo la qualità e la vitalità dei nostri prodotti.
Garantiamo che le nostre cellule saranno vitali all'inizio della coltura per 60 giorni dopo la spedizione dai nostri stabilimenti.
Assicuriamo che tutti i materiali sono conformi alle specifiche descritte nel Certificato di Analisi e/o nella Scheda Prodotto
Per tutti i dettagli, consultare la nostra <a href=""/Chi-siamo/Garanzia/"" hreflang=""x-default"">Dichiarazione di Garanzia

Si applicano gli accordi con terze parti	Yes