U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple

300461

ALGEMENE INFORMATIE

Beschrijving

De U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple is een genetisch gemanipuleerde osteosarcoom cellijn afgeleid van de menselijke U-2 OS cellijn, bekend om zijn robuuste groeikenmerken en bruikbaarheid in verschillende biologische studies. Deze specifieke kloon is gewijzigd met behulp van CRISPR/Cas9-genbewerkingstechnologie om mMaple, een fotoconverteerbaar fluorescerend eiwit, in het NUP96-gen op te nemen. Het mMaple-eiwit maakt geavanceerde beeldvormingstechnieken mogelijk, zoals live-cell imaging en superresolutiemicroscopie, en biedt dynamisch inzicht in het gedrag van het nucleaire poriëncomplex (NPC) en cellulaire import-exportmechanismen door de nucleaire envelop.
Het NUP96-gen, dat codeert voor een cruciaal onderdeel van het NPC, is essentieel voor nucleocytoplasmatisch transport. Verandering van NUP96 kan niet alleen de transportmechanismen beïnvloeden, maar ook de algehele nucleaire architectuur en functie. Deze cellijn dient dus als een uitstekend model voor het bestuderen van NPC-gerelateerde pathologieën en de rol van nucleair transport in cellulair metabolisme en signalering. De integratie van mMaple in NUP96 maakt real-time volgen en visualisatie van NUP96 dynamiek in vivo mogelijk, waardoor het een onmisbaar instrument wordt voor onderzoekers die zich richten op celkernstudies en onderzoekers die de implicaties van NPC disfuncties in ziekten zoals kanker en virale infecties onderzoeken.
Als gespecialiseerd instrument ondersteunt U-2 OS-CRISPR-NUP96-maple kloon nr. 16 beeldvorming met hoge resolutie en levert het substantiële gegevens over de ruimtelijke en temporele distributie van NPC-componenten. Het is bijzonder waardevol voor experimenten die een gedetailleerde analyse van genexpressie, eiwitlokalisatie en nucleair transport onder fysiologische en pathologische omstandigheden vereisen, waardoor een beter begrip van cellulaire processen op moleculair niveau mogelijk wordt.

Weefsel	Bot
Ziekte	Osteosarcoom

CLASSIFICATIE

Organisme	Mens
Seks	Vrouw
Groei-eigenschappen	Aanhanger
GGO-status	GMO-S1

Details over de GGO-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.

Bioveiligheidsniveau	1

IDENTIFICATIEGEGEVENS

Bronvermelding

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

NCBI-belastingnummer	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FK
Inlegger	Het Ellenberg Lab (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

EXPRESSIE EN VATBAARHEID

Eiwit-expressie

NUP96-mMaple (endogeen eiwit van het nucleaire poriëncomplex 96, gemerkt met mMaple)

BEHANDELING EN KWEEK

Kweekmedium

McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glucose, w: stabiel Glutamine, w: 2,0 mM Natriumpyruvaat, w: 2,2 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820200a)

Incubatieomgeving	37°C, 5%CO2, bevochtigde atmosfeer.

Supplementen

Vul het medium aan met 10% FBS, 1% NEAA

Dissociatiereagens	Accutase

Heruitplanten

Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Zaaidichtheid	1 x 10^4 cellen/cm^2
Vloeistofverversing	2 tot 3 keer per week

Ontdooien en kweken

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.

KWALITEITSCONTROLE EN CRYOPRESERVATIE

Onvruchtbaarheid

Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.
Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

Kweekmedium invriezen	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Opslagvoorwaarden

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Verzendvoorwaarden

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

DONATEUR

Leeftijd van de donor	15 jaar
Etnische afkomst	Kaukasisch

JURIDISCHE EN VEILIGHEIDSASPECTEN

Veiligheidsmaatregelen

Wanneer men van plan is om een cryovial in vloeibare stikstof op te slaan om later te ontdooien, is het verplicht om strenge veiligheidsmaatregelen in acht te nemen. Passende beschermende handschoenen en kleding zijn essentieel en het gebruik van een gezichtsmasker of veiligheidsbril is vereist tijdens het overbrengen van bevroren monsters naar of uit de tank met vloeibare stikstof. Dit is om het risico op letsel door mogelijke cryoviale explosies bij het verwijderen te beperken, wat kan resulteren in de projectie van scherpe fragmenten.

Garantie

Bij Cytion staan we achter de kwaliteit en levensvatbaarheid van onze producten.
We garanderen dat onze cellen levensvatbaar zijn bij het begin van de kweek gedurende 60 dagen na verzending vanuit onze faciliteiten.
We verzekeren dat alle materialen voldoen aan de specificaties beschreven in het analysecertificaat en/of productblad
Raadpleeg voor volledige informatie onze <a href=""/Wie-zijn-wij/Garantie/"" hreflang=""x-default"">Garantieverklaring

Er gelden overeenkomsten met derden	Yes

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