U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple

300461

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

A U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple é uma linha celular de osteossarcoma geneticamente modificada derivada da linha celular humana U-2 OS, conhecida pelas suas caraterísticas de crescimento robustas e utilidade em vários estudos biológicos. Este clone específico foi modificado utilizando a tecnologia de edição de genes CRISPR/Cas9 para incorporar mMaple, uma proteína fluorescente fotoconversível, no gene NUP96. A proteína mMaple permite a utilização de técnicas avançadas de imagiologia, como a imagiologia de células vivas e a microscopia de super-resolução, proporcionando uma visão dinâmica do comportamento do complexo de poros nucleares (NPC) e dos mecanismos de importação-exportação celular através do envelope nuclear.
O gene NUP96, que codifica um componente crucial do NPC, é vital para o transporte nucleocitoplasmático. A alteração do NUP96 pode afetar não só os mecanismos de transporte, mas também a arquitetura e a função nucleares em geral. Assim, esta linha celular constitui um excelente modelo para estudar patologias relacionadas com o NPC e o papel do transporte nuclear no metabolismo e na sinalização celular. A integração do mMaple na NUP96 permite o rastreio e a visualização em tempo real da dinâmica da NUP96 in vivo, tornando-a uma ferramenta indispensável para os investigadores que se dedicam ao estudo do núcleo celular e para os que exploram as implicações das disfunções da NPC em doenças como o cancro e as infecções virais.
Como ferramenta especializada, o clone U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple n.º 16 suporta imagens de alta resolução e fornece dados substanciais sobre a distribuição espacial e temporal dos componentes do NPC. É particularmente valioso para experiências que requerem uma análise detalhada da expressão genética, localização de proteínas e transporte nuclear em condições fisiológicas e patológicas, facilitando uma compreensão mais profunda dos processos celulares a nível molecular.

Tecido	Osso
Doença	Osteossarcoma

CLASSIFICAÇÃO

Organismo	Humano
Sexo	Feminino
Propriedades de crescimento	Aderente
Estatuto em matéria de OGM	GMO-S1

Detalhes sobre o estatuto dos 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.

Nível de biossegurança	1

IDENTIFICADORES

Referência

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (número de catálogo Cytion 300461)

Número de identificação fiscal do NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FK
Depositante	O Laboratório Ellenberg (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

EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

Expressão proteica

NUP96-mMaple (proteína endógena do complexo de poro nuclear 96, marcada com mMaple)

MANUSEAMENTO E CULTURA

Meio de cultura

McCoys 5a, com: 3,0 g/L de glucose, com: glutamina estável, com: 2,0 mM de piruvato de sódio, com: 2,2 g/L de NaHCO3 (número de artigo Cytion 820200a)

Atmosfera de incubação	37°C, 5%CO2, atmosfera humidificada.

Suplementos

Completar o meio com 10% de FBS, 1% de NEAA

Reagente de dissociação	Accutase

Subcultura

Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Densidade de sementeira	1 x 10^4 células/cm^2
Renovação de fluidos	2 a 3 vezes por semana

Descongelamento e cultura

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.

CONTROLO DE QUALIDADE E CRIOPRESERVAÇÃO

Esterilidade

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.
Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Meio de congelação	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Condições de armazenamento

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Condições de envio

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

DOADOR

Idade do dador	15 anos
Etnia	Caucasiano

ASPECTOS LEGAIS E DE SEGURANÇA

Precauções de segurança

Quando se planeia armazenar um criovial em nitrogénio líquido para descongelação futura, é obrigatório aderir a medidas de segurança rigorosas. Luvas e vestuário de proteção adequados são essenciais, e a utilização de uma máscara facial ou óculos de segurança é necessária durante a transferência de amostras congeladas para ou do tanque de nitrogénio líquido. Isto destina-se a mitigar o risco de ferimentos provocados por potenciais explosões de crioviais após a remoção, que podem resultar na projeção de fragmentos afiados.

Garantia

Na Cytion, nós garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células serão viáveis no início da cultura por 60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no Certificado de Análise e/ou Folha de Produto
Para mais informações, consulte a nossa <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Declaração de Garantia

Aplicam-se os acordos com terceiros	Yes