U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple

300461

SPLOŠNE INFORMACIJE

Opis

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple je gensko spremenjena celična linija osteosarkoma, ki izhaja iz človeške celične linije U-2 OS, znane po svojih močnih rastnih lastnostih in uporabnosti v različnih bioloških študijah. Ta klon je bil spremenjen s tehnologijo za urejanje genov CRISPR/Cas9 tako, da je v gen NUP96 vgrajen mMaple, fotokonvertibilni fluorescenčni protein. Beljakovina mMaple omogoča napredne tehnike slikanja, kot sta slikanje živih celic in mikroskopija s superresolucijo, kar omogoča dinamičen vpogled v obnašanje kompleksa jedrnih por (NPC) in mehanizme celičnega uvoza in izvoza skozi jedrno ovojnico.
Gen NUP96, ki kodira ključno komponento NPC, je bistvenega pomena za nukleocitoplazemski transport. Spremembe v NUP96 lahko vplivajo ne le na transportne mehanizme, temveč tudi na celotno zgradbo in delovanje jedra. Ta celična linija tako služi kot odličen model za preučevanje patologij, povezanih z NPC, in vloge jedrnega transporta pri celičnem metabolizmu in signalizaciji. Integracija mMaple v NUP96 omogoča sledenje in vizualizacijo dinamike NUP96 v realnem času in vivo, zato je nepogrešljivo orodje za raziskovalce, ki se ukvarjajo s preučevanjem celičnega jedra, in tiste, ki raziskujejo posledice motenj v delovanju NPC pri boleznih, kot so rak in virusne okužbe.
Kot specializirano orodje U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple klon št. 16 podpira slikanje z visoko ločljivostjo in zagotavlja pomembne podatke o prostorski in časovni porazdelitvi komponent NPC. Posebej dragocen je za poskuse, ki zahtevajo podrobno analizo izražanja genov, lokalizacije beljakovin in jedrnega transporta v fizioloških in patoloških pogojih, kar omogoča globlje razumevanje celičnih procesov na molekularni ravni.

Tkivo	Kosti
Bolezen	Osteosarkom

RAZVRSTITEV

Organizem	Človek
Seks	Ženska
Lastnosti rasti	Pripadnik
Status GSO	GMO-S1

Podrobnosti o statusu GSO

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.

Stopnja biološke varnosti	1

IDENTIFIKATORJI

Navajanje vira

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (kataloška številka Cytion 300461)

Davčna identifikacijska številka NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FK
Vlagatelj	Laboratorij 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

IZRAŽANJE IN DOVZETNOST

Ekspresija beljakovin

NUP96-mMaple (endogeni protein kompleksa jedrskih por 96, označen z mMaple)

RAVNANJE IN GOJENJE

Gojišče

McCoys 5a, w: 3,0 g/L glukoze, w: stabilen glutamin, w: 2,0 mM natrijevega piruvata, w: 2,2 g/L NaHCO3 (številka izdelka Cytion 820200a)

Inkubacijska atmosfera	37 °C, 5 %CO2, vlažno ozračje.

Prehranska dopolnila

Gojišče dopolnite z 10 % FBS, 1 % NEAA

Reagenca za disociacijo	Accutase

Preusmeritev v drugo kulturo

Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Gostota setve	1 x 10^4 celic/cm^2
Obnova tekočine	2 do 3-krat na teden

Odtaljevanje in gojenje

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.

KONTROLA KAKOVOSTI IN KRIOPREZERVACIJA

Sterilnost

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.
Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Medij za zamrzovanje	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Pogoji shranjevanja

Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Pogoji dostave

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

DONATOR

Starost darovalca	15 let
Etnična pripadnost	Kavkaški

PRAVNE ZADEVE IN VARNOST

Varnostni ukrepi

Pri načrtovanju shranjevanja kriovialov v tekočem dušiku za kasnejše odtaljevanje je treba obvezno upoštevati stroge varnostne ukrepe. Nujni so ustrezne zaščitne rokavice in oblačila, med prenosom zamrznjenih vzorcev v rezervoar s tekočim dušikom ali iz njega pa je potrebna uporaba obrazne maske ali zaščitnih očal. S tem se zmanjša tveganje poškodb zaradi morebitnih eksplozij kriovialov pri odstranjevanju, ki lahko povzročijo izstrelitev ostrih delcev.

Garancija

V podjetju Cytion stojimo za kakovostjo in uporabnostjo svojih izdelkov.
Zagotavljamo, da bodo naše celice ob začetku gojenja še 60 dni po odpremi iz naših obratov vitalne.
Zagotavljamo, da so vsi materiali skladni s specifikacijami, opisanimi v potrdilu o analizi in/ali listu izdelka
Za vse podrobnosti si oglejte našo <a href=""/Kdo smo/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garancijsko izjavo

Veljajo pogodbe s tretjimi strankami	Yes