U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple

300461

ALLMÄN INFORMATION

Beskrivning

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple är en genetiskt modifierad osteosarkomcellinje som härrör från den humana U-2 OS-cellinjen, känd för sina robusta tillväxtegenskaper och användbarhet i olika biologiska studier. Denna speciella klon har modifierats med hjälp av CRISPR/Cas9-genredigeringsteknik för att införliva mMaple, ett fotokonvertibelt fluorescerande protein, i NUP96-genen. Proteinet mMaple möjliggör avancerade avbildningstekniker såsom avbildning av levande celler och superupplösningsmikroskopi, vilket ger dynamiska insikter i kärnporskomplexets (NPC) beteende och cellulära import- och exportmekanismer genom kärnhöljet.
NUP96-genen, som kodar för en viktig komponent i NPC, är avgörande för nukleocytoplasmisk transport. Förändringar i NUP96 kan påverka inte bara transportmekanismerna utan även kärnans övergripande arkitektur och funktion. Denna cellinje fungerar därför som en utmärkt modell för att studera NPC-relaterade patologier och kärntransportens roll i cellulär metabolism och signalering. Integreringen av mMaple i NUP96 möjliggör spårning och visualisering i realtid av NUP96-dynamiken in vivo, vilket gör den till ett oumbärligt verktyg för forskare som fokuserar på studier av cellkärnor och för dem som utforskar konsekvenserna av NPC-dysfunktioner i sjukdomar som cancer och virusinfektioner.
Som ett specialiserat verktyg stöder U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple clone no.16 högupplöst bildbehandling och ger betydande data om den rumsliga och tidsmässiga fördelningen av NPC-komponenter. Den är särskilt värdefull för experiment som kräver detaljerad analys av genuttryck, proteinlokalisering och kärntransport under fysiologiska och patologiska förhållanden, vilket underlättar en djupare förståelse av cellulära processer på molekylär nivå.

Vävnad	Ben
Sjukdom	Osteosarkom

KLASSIFICERING

Organism	Människa
Kön	Kvinna
Tillväxtegenskaper	Följsam
GMO-status	GMO-S1

Detaljer om GMO-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.

Biosäkerhetsnivå	1

IDENTIFIERARE

Källa

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

NCBI-skattenummer	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FK
Insättare	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

UTTRYCK OCH MOTTAGLIGHET

Proteinexpression

NUP96-mMaple (endogent kärnporskomplexprotein 96, mMaple-märkt)

HANTERING OCH ODLING

Odlingsmedium

McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glukos, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820200a)

Inkubationsatmosfär	37°C, 5%CO2, befuktad atmosfär.

Kosttillskott

Komplettera mediet med 10% FBS, 1% NEAA

Dissociationsmedel	Accutase

Vidareodling

Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Såtäthet	1 x 10^4 celler/cm^2
Vätskeförnyelse	2 till 3 gånger per vecka

Upptining och odling

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.

KVALITETSKONTROLL OCH KRYOKONSERVERING

Sterilitet

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

Frysmedel	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Förvaringsförhållanden

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Leveransvillkor

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

DONATOR

Donatorns ålder	15 år
Etnicitet	Kaukasisk

JURIDISKA FRÅGOR OCH SÄKERHET

Säkerhetsföreskrifter

När man planerar att förvara en kryovial i flytande kväve för framtida upptining är det obligatoriskt att följa strikta säkerhetsåtgärder. Lämpliga skyddshandskar och skyddskläder är nödvändiga, och ansiktsmask eller skyddsglasögon måste användas vid överföring av frysta prover till eller från tanken med flytande kväve. Detta för att minska risken för skador på grund av eventuella explosioner i frysbehållaren vid borttagning, vilket kan leda till att vassa fragment projiceras.

Garanti

På Cytion står vi bakom våra produkters kvalitet och livskraft.
Vi garanterar att våra celler är livsdugliga vid odlingens början i 60 dagar efter leverans från våra anläggningar.
Vi försäkrar att allt material överensstämmer med de specifikationer som beskrivs i analyscertifikatet och/eller produktbladet
För fullständig information, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantiförklaring

Avtal med tredje part gäller	Yes