

Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448

Обща информация

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo е генетично модифицирана клетъчна линия, получена от човешките остеосаркомни клетки U-2 OS. Тази клетъчна линия е модифицирана с помощта на технологията CRISPR-Cas9, за да се включи HaloTag в локуса на гена NUP96. NUP96, част от комплекса на ядрените пори, играе важна роля в ядрения транспорт и клетъчната регулация. Въвеждането на HaloTag позволява прецизно визуализиране и биохимично характеризиране на динамиката и взаимодействията на NUP96 в клетката.

Като улеснява ковалентното прикрепване на флуоресцентни лиганди или други сонди, HaloTag позволява визуализация в реално време и предоставя мощен инструмент за изучаване на механизмите на ядрения транспорт в живи клетки. Този конкретен клонинг, номер 252, е избран заради стабилната експресия на NUP96 с HaloTag, което гарантира постоянна работа в експерименталните постановки. Тази характеристика го прави изключително подходящ за техники за визуализация с висока резолюция и изследвания на молекулярното взаимодействие, като по този начин подпомага напредналите изследвания в клетъчната биология, особено в контекста на ядрената функция и генетичната регулация.

Organism

Човек

Tissue

Bone

Disease

Остеосарком

Характеристики

Age

15 години

Gender

Жена

Ethnicity

Кавказки

Morphology

Подобни на епител

Growth properties

Придържачи се

Регулаторни данни

Citation

U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo (каталожен номер 300448 на Cytion)

Biosafety level

1

Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FI**Depositor** Лабораторията на Елънбърг (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Тази човешка клетъчна линия на остеосарком (U2OS-CRISPR-NUP96-Halo, клон 252) съдържа редактиран от CRISPR синтез NUP96-Halo, генериран чрез лентивирусна доставка, който позволява флуоресцентно маркиране на комплексите на ядрените пори. Модификацията е стабилно интегрирана. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекуларни данни

Protein expression NUP96-Halo (ендогенен протеин на ядрения порен комплекс 96, маркиран с Halo)

Работа с

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/L глюкоза, w: стабилен глутамин, w: 2,0 mM натриев пируват, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820200a)**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.**Seeding density** 1×10^4 клетки/cm²**Fluid renewal** 2 до 3 пъти седмично**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

HLA алели

A*: '02:01:01, '32:01:01
B*: '44:02:01, '44:27:01
C*: '05:01:01, '07:04:01
DRB1*: '09:01:02G, '14:54:01
DQA1*: '01:04:01, '03:02:01
DQB1*: '03:03:02, '05:03:01
DPB1*: '02:01:02, '04:01:01
E: '01:01:01