Product sheet

Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Обща информация

Description	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP е генетично модифицирана клетъчна линия на остеосарком, получена от изходната човешка клетъчна линия U-2 OS. Тази клетъчна линия е създадена чрез CRISPR/Cas9-медиирано редактиране на генома, за да се включи SNAP-таг в гена NUP96, което позволява визуализиране и изследване на динамиката на ядрения порен комплекс. Комплексите на ядрените пори (NPC) са от решаващо значение за регулирането на нуклеоцитоплазмения транспорт, а NUP96 е важен компонент на NPC, който играе ключова роля за структурната цялост и функцията му. В клонинг № 33 на U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP интегрирането на SNAP-таг в локуса на NUP96 позволява специфично и ковалентно прикрепване на флуоресцентни субстрати или други химически сонди, които могат да се използват за изобразяване на живи клетки и други биохимични анализи. Тази характеристика го прави безценен инструмент за изследване на молекулярната динамика на нуклеоцитоплазмения транспорт, за разбиране на патологиите, свързани с NPC, и за скрининг на терапевтични съединения, които влияят на функцията на NPC. Клетъчната линия също така запазва характеристиките на родителската линия U-2 OS, които включват високо ниво на генетична стабилност и лесно култивиране, което я прави подходяща за високопроизводителен скрининг и разширени изследвания в областта на клетъчната биология. Благодарение на специфичността на модификацията в гена NUP96, U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP клонинг № 33 предоставя уникален модел за подробно изследване на компонентите на NPC в контекста на клетъчната функция и дисфункция. Изследователите могат да използват системата за SNAP-етикетиране за селективно и бързо маркиране на NUP96, което улеснява визуализирането на динамиката на NPC в реално време при физиологични и патологични условия. Този специфичен клонинг може да служи като стабилна платформа както за фундаментални изследвания, така и за приложни биомедицински проучвания, допринасяйки значително за областите на клетъчната биология, генетиката и онкологията.
Organism	Човек
Tissue	Bone
Disease	Остеосарком

Характеристики

Age	15 години
Gender	Жена
Ethnicity	Кавказки
Growth properties	Придържащи се

Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Регулаторни данни

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (каталожен номер 300444 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FL
Depositor	Лабораторията на Елънбърг (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Тази човешка клетъчна линия на остеосарком (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, клонинг 33) съдържа синтез NUP96-SNAP, създаден по метода CRISPR, който улеснява химическото маркиране на ядрените пори с SNAP-тагове. Модификацията е стабилно интегрирана. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Protein expression	NUP96-SNAP (протеин 96 от комплекса на ядрената пора, SNAP-етикет)

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, 3,0 g/L глюкоза, стабилен глутамин, 2,0 mM натриев пируват, 2,2 g/L NaHCO3, 1% NEAA
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 ресуспендирате, 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/cm^2

Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

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.

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 °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 антимикробен агент с температура 37 °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 разбъркате 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°C, 5% $_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Flask Coating	За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.
Freezing Procedure	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.
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.