

Buňky U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444**Obecné informace****Description**

U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP je geneticky modifikovaná buněčná linie osteosarkomu odvozená od mateřské lidské buněčné linie U-2 OS. Tato buněčná linie byla upravena pomocí editace genomu zprostředkované CRISPR/Cas9 tak, aby obsahovala značku SNAP u genu NUP96, což umožňuje vizualizaci a studium dynamiky komplexu jaderných pórů. Komplexy jaderných pórů (NPC) mají zásadní význam pro regulaci nukleocytoplazmatického transportu a NUP96 je významnou součástí NPC a hraje klíčovou roli v jeho strukturální integritě a funkci.

V klonu U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP č. 33 umožňuje integrace značky SNAP do lokusu NUP96 specifické a kovalentní připojení fluorescenčních substrátů nebo jiných chemických sond, které lze použít pro zobrazování živých buněk a další biochemické testy. Tato vlastnost z něj činí neocenitelný nástroj pro zkoumání molekulární dynamiky nukleocytoplazmatického transportu, pochopení patologií souvisejících s NPC a screening terapeutických sloučenin, které ovlivňují funkci NPC. Buněčná linie si rovněž zachovává vlastnosti rodičovské linie U-2 OS, mezi něž patří vysoká úroveň genetické stability a snadná kultivace, což ji činí vhodnou pro vysoce výkonný screening a rozšířené studie v buněčné biologii.

Díky specifičnosti modifikace v genu NUP96 poskytuje klon č. 33 U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP jedinečný model pro podrobné studium složek NPC v kontextu buněčné funkce a dysfunkce. Výzkumníci mohou využít systém značek SNAP k selektivnímu a rychlému značení NUP96, což usnadňuje vizualizaci dynamiky NPC v reálném čase za fyziologických a patologických podmínek. Tento specifický klon může sloužit jako robustní platforma pro základní výzkum i aplikované biomedicínské studie a významně přispět k rozvoji oborů buněčné biologie, genetiky a onkologie.

Organism	Člověk
Tissue	Kost
Disease	Osteosarkom

Charakteristika

Age	15 let
Gender	Ženy
Ethnicity	Kavkazský
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Buňky U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (katalogové číslo Cytion 300444)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FL
Depositor	Ellenbergova laboratoř (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Tato lidská buněčná linie osteosarkomu (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, klon 33) obsahuje fúzi NUP96-SNAP vytvořenou pomocí CRISPR, která usnadňuje chemické značení jaderných pórů pomocí SNAP-značky. Modifikace je stabilně integrovaná. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Protein expression	NUP96-SNAP (protein komplexu jaderných pórů 96, značka SNAP)
---------------------------	--

Zpracování

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukóza, w: stabilní glutamin, w: 2,0 mM pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO ₃ (číslo článku Cytion 820200a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS, 3,0 g/l glukózy, stabilní glutamin, 2,0 mM pyruvát sodný, 2,2 g/l NaHCO ₃ , 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčičku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:4 až 1:6
Seeding density	1 x 10 ⁴ buněk/cm ²
Fluid renewal	2 až 3krát týdně

Buňky U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444**Freeze medium**

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělíte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,y