

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo-celler | 300448

Generel information

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo er en genetisk konstrueret cellelinje, der stammer fra de humane osteosarkom U-2 OS-celler. Denne cellelinje er blevet modificeret ved hjælp af CRISPR-Cas9-teknologi til at inkorporere en HaloTag i NUP96-genet. NUP96, som er en del af kerneporekomplekset, spiller en afgørende rolle i nuklear transport og cellulær regulering. Introduktionen af HaloTag giver mulighed for præcis visualisering og biokemisk karakterisering af NUP96's dynamik og interaktioner i cellen.

Ved at lette den kovalente fastgørelse af fluorescerende ligander eller andre prober muliggør HaloTag billeddannelse i realtid og giver et kraftfuldt værktøj til at studere de nukleare transportmekanismer i levende celler. Denne særlige klon, nummer 252, er udvalgt på grund af dens stabile udtryk af HaloTagged NUP96, hvilket sikrer en ensartet ydeevne i forsøgsopstillinger. Denne egenskab gør den yderst velegnet til billeddannelsesteknikker med høj opløsning og molekylære interaktionsstudier og understøtter dermed avanceret forskning i cellebiologi, især i forbindelse med nuklear funktion og genetisk regulering.

Organism Menneske

Tissue Knogle

Disease Osteosarkom

Karakteristika

Age 15 år

Gender Kvinde

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Epitel-lignende

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo (Cytion katalognummer 300448)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo-celler | 300448**CellosaurusAccession** CVCL_B7FI**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Denne humane osteosarkomcellelinje (U2OS-CRISPR-NUP96-Halo, klon 252) indeholder en CRISPR-redigeret NUP96-Halo-fusion genereret via lentiviral levering, hvilket muliggør fluorescerende mærkning af nukleare porekomplekser. Modifikationen er stabilt integreret. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Protein expression** NUP96-Halo (endogent nukleart porekompleks-protein 96, Halo-mærket)**Håndtering****Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glukose, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820200a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Seeding density** 1×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Freeze medium** Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo-celler | 300448

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo-celler | 300448

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

HLA-alleler

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