

Κύτταρα U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Γενικές πληροφορίες

Description

Η U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP είναι μια γενετικά τροποποιημένη κυτταρική σειρά οστεοσαρκώματος που προέρχεται από τη μητρική ανθρώπινη κυτταρική σειρά U-2 OS. Αυτή η κυτταρική σειρά έχει τροποποιηθεί μέσω επεξεργασίας γονιδιώματος με τη μεσολάβηση CRISPR/Cas9 ώστε να ενσωματώνει μια ετικέτα SNAP στο γονίδιο NUP96, επιτρέποντας την οπτικοποίηση και τη μελέτη της δυναμικής του συμπλόκου των πυρηνικών πόρων. Τα σύμπλοκα πυρηνικών πόρων (NPC) είναι ζωτικής σημασίας για τη ρύθμιση της νουκλεοκυτταροπλασματικής μεταφοράς και το NUP96 είναι ένα σημαντικό συστατικό του NPC, διαδραματίζοντας καθοριστικό ρόλο στη δομική ακεραιότητα και λειτουργία του.

Στον κλώνο U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP αριθ. 33, η ενσωμάτωση της ετικέτας SNAP στον τόπο NUP96 επιτρέπει την ειδική και ομοιοπολική προσκόλληση φθορίζοντος υποστρώματος ή άλλων χημικών ανιχνευτών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για απεικόνιση ζωντανών κυττάρων και άλλες βιοχημικές αναλύσεις. Αυτό το χαρακτηριστικό το καθιστά ανεκτίμητο εργαλείο για τη διερεύνηση της μοριακής δυναμικής της νουκλεοκυτταροπλασματικής μεταφοράς, την κατανόηση των παθολογιών που σχετίζονται με το NPC και τον έλεγχο για θεραπευτικές ενώσεις που επηρεάζουν τη λειτουργία του NPC. Η κυτταρική σειρά διατηρεί επίσης τα χαρακτηριστικά της γονικής σειράς U-2 OS, τα οποία περιλαμβάνουν υψηλό επίπεδο γενετικής σταθερότητας και ευκολία καλλιέργειας, καθιστώντας την κατάλληλη για διαλογή υψηλής απόδοσης και εκτεταμένες μελέτες στην κυτταρική βιολογία.

Λόγω της εξειδίκευσης της τροποποίησης στο γονίδιο NUP96, ο κλώνος U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP αριθ. 33 παρέχει ένα μοναδικό μοντέλο για τη λεπτομερή μελέτη των συστατικών του NPC στο πλαίσιο της κυτταρικής λειτουργίας και δυσλειτουργίας. Οι ερευνητές μπορούν να αξιοποιήσουν το σύστημα ετικέτας SNAP για την επιλεκτική και ταχεία επισήμανση του NUP96, διευκολύνοντας την οπτικοποίηση της δυναμικής του NPC σε πραγματικό χρόνο υπό φυσιολογικές και παθολογικές συνθήκες. Ο συγκεκριμένος κλώνος μπορεί να χρησιμεύσει ως μια ισχυρή πλατφόρμα τόσο για βασική έρευνα όσο και για εφαρμοσμένες βιοϊατρικές μελέτες, συμβάλλοντας σημαντικά στους τομείς της κυτταρικής βιολογίας, της γενετικής και της ογκολογίας.

Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Οστά
Disease	Οστεοσάρκωμα

Χαρακτηριστικά

Age	15 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Καυκάσιος
Growth properties	Προσκολλημένο

Κύτταρα U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (αριθμός καταλόγου Cytion 300444)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FL
Depositor	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)
GMO Status	ΓΤΟ-S1: Αυτή η ανθρώπινη κυτταρική σειρά οστεοσαρκώματος (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, κλώνος 33) περιέχει μια CRISPR-επεξεργασμένη σύντηξη NUP96-SNAP που διευκολύνει τη χημική σήμανση των πυρηνικών πόρων με ετικέτα SNAP. Η τροποποίηση είναι σταθερά ενσωματωμένη. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	NUP96-SNAP (πρωτεΐνη 96 του συμπλέγματος πυρηνικού πόρου, με ετικέτα SNAP)
---------------------------	--

Χειρισμός

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 g/L γλυκόζη, w: σταθερή γλουταμίνη, w: 2,0 mM πυρροβικό νάτριο, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820200a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 3,0 g/L γλυκόζη, σταθερή γλουταμίνη, 2,0 mM πυρροβικό νάτριο, 2,2 g/L NaHCO ₃ , 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμειξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Seeding density	1 x 10 ⁴ κύτταρα/cm ²

Κύτταρα U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.**Flask Coating**

Κανένα

Κύτταρα U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.