

## U2OS-CRISPR-NUP96-Halo rakud | 300448

## Üldine teave

## Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo on geneetiliselt muundatud rakuliin, mis on saadud inimese osteosarkoomi U-2 OS rakkudest. Seda rakuliini on muudetud CRISPR-Cas9 tehnoloogia abil, et lisada HaloTag NUP96 geeni lokaali. NUP96, mis on osa tuumapoorikompleksist, mängib kriitilist rolli tuuma transportimisel ja rakkude reguleerimisel. HaloTag'i lisamine võimaldab NUP96 dünaamika ja rakusiseste interaktsioonide täpset visualiseerimist ja biokeemilist iseloomustamist.

Fluorestseeruvate ligandide või muude proovide kovalentset kinnitamist hõlbustades võimaldab HaloTag reaalajas pildistamist ja annab võimsa vahendi tuumatranspordimehhanismide uurimiseks elusrakus. See konkreetne kloon, number 252, on valitud HaloTagiga varustatud NUP96 stabiilse ekspressiooni tõttu, mis tagab püsiva tulemuslikkuse katsekomplektides. See omadus muudab selle väga sobivaks kõrge resolutsiooniga pildistamismeetodite ja molekulaarse koostoime uuringute jaoks, toetades seeläbi täiustatud teadusuuringuid rakubioloogias, eelkõige tuuma funktsiooni ja geneetilise regulatsiooni kontekstis.

## Organism

Inimene

## Tissue

Bone

## Disease

Osteosarkoom

## Omadused

## Age

15 aastat

## Gender

Naised

## Ethnicity

Kaukaasia

## Morphology

Epiteelilaadsed

## Growth properties

Kinnipeetav

## Regulatiivsed andmed

## Citation

U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo (Cytioni katalooginumbriga 300448)

## Biosafety level

1

## NCBI\_TaxID

9606

## U2OS-CRISPR-NUP96-Halo rakud | 300448

**CellosaurusAccession** CVCL\_B7FI**Depositor** Ellenbergi labor (EMBL)

**GMO Status** GMO-S1: See inimese osteosarkoomi rakuliin (U2OS-CRISPR-NUP96-Halo, kloon 252) sisaldab CRISPR-editeeritud NUP96-Halo fusiooni, mis on loodud lentiviiruse abil, mis võimaldab tuumapoorikomplekside fluorestseerivat märgistamist. Modifikatsioon on stabiilselt integreeritud. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

## Biomolekulaarsed andmed

**Protein expression** NUP96-Halo (endogeenne tuumapoorikompleksi 96 valk, Halo märgistusega)

## Töötlemine

**Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/L glükoos, w: stabiilne glutamiin, w: 2,0 mM naatriumpüruvaat, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820200a)

**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas

**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

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

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakesuspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation  
Atmosphere**

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Freezing  
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping  
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## U2OS-CRISPR-NUP96-Halo rakud | 300448

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

### HLA alleles

**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