Product sheet

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP rakud | 300444

Üldine teave

Description	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP on geneetiliselt muundatud osteosarkoomi rakuliin, mis on saadud inimese U-2 OS vanemrakuliinist. See rakuliin on muudetud CRISPR/Cas9-vahendatud genoomi redigeerimise abil, et lisada SNAP-märgis NUP96 geenile, mis võimaldab tuumapoorikompleksi dünaamika visualiseerimist ja uurimist. Tuumapoorikompleksid (NPC) on tuumasütoplasma transpordi reguleerimisel üliolulised ja NUP96 on NPC oluline komponent, millel on keskne roll selle struktuurilises terviklikkuses ja funktsioonis. U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP kloonis nr 33 võimaldab SNAP-tähe integreerimine NUP96 lokaali spetsiifilist ja kovalentset kinnitamist fluorestseeruvate substraatide või muude keemiliste proovide jaoks, mida saab kasutada elusraku kujutamiseks ja muude biokeemiliste analüüside tegemiseks. See omadus muudab selle hindamatuks vahendiks nukleotsütoplasma transpordi molekulaarse dünaamika uurimiseks, NPCga seotud patoloogiate mõistmiseks ja NPC funktsiooni mõjutavate terapeutiliste ühendite skriininguks. Rakuliin säilitab ka vanemliini U-2 OS omadused, mille hulka kuuluvad kõrge geneetiline stabiilsus ja lihtne kasvatamine, mistõttu sobib see rakuliin kõrge läbilaskevõimega skriininguks ja ulatuslikeks uuringuteks rakubioloogias. Tänu modifikatsiooni spetsiifilisusele NUP96 geenis pakub U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP kloon nr 33 ainulaadset mudelit NPC komponentide üksikasjalikuks uurimiseks raku toimimise ja talitlushäirete kontekstis. Teadlased saavad kasutada SNAP-märgise süsteemi NUP96 selektiivseks ja kiireks märgistamiseks, hõlbustades NPC dünaamika visualiseerimist reaalajas füsioloogilistes ja patoloogilistes tingimustes. See konkreetne kloon võib olla tugev platvorm nii alusuuringute kui ka rakenduslike biomeditsiiniliste uuringute jaoks, aidates oluliselt kaasa rakubioloogia, geneetika ja onkoloogia valdkondadele.
Organism	Inimene
Tissue	Bone
Disease	Osteosarkoom

Omadused

Age	15 aastat
Gender	Naised
Ethnicity	Kaukaasia
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (Cytioni katalooginumber 300444)

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP rakud | 300444

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FL
Depositor	Ellenbergi labor (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: See inimese osteosarkoomi rakuliin (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, kloon 33) sisaldab CRISPR-töödeldud NUP96-SNAP-fusiooni, mis hõlbustab tuumapooride SNAP-tag'i keemilist märgistamist. Modifikatsioon on stabiilselt integreeritud. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression	NUP96-SNAP (tuumapoorikompleksi valk 96, SNAP-tag)

Töötlemine

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 g/L glükoos, w: stabiilne glutamiin, w: 2,0 mM naatriumpüruvaat, w: 2,2 g/L NaHCO3 (Cytioni artikli number 820200a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS, 3,0 g/L glükoosi, stabiilse glutamiini, 2,0 mM naatriumpüruvaadi, 2,2 g/L NaHCO3, 1% NEAAga
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 x 10^4 rakku/cm^2
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP rakud | 300444

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

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal 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 viaali 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 viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon 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. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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%$_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.
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 viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP rakud | 300444

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 viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
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 / Geneetiline profiil / HLA

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.