

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

## Általános információk

## Description

Az U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo egy genetikailag módosított sejtvonalt, amely az emberi csonttrikulósos U-2 OS sejtekből származik. Ezt a sejtvonalt CRISPR-Cas9 technológiával módosították, hogy a NUP96 génlókuszba HaloTag-et építsenek be. A NUP96, a nukleáris pórus komplex része, kritikus szerepet játszik a nukleáris transzportban és a sejtek szabályozásában. A HaloTag bevezetése lehetővé teszi a NUP96 dinamikájának és a sejten belüli kölcsönhatásainak pontos vizualizálását és biokémiai jellemzését.

A fluoreszcens ligandumok vagy más szondák kovalens rögzítésének megkönnyítésével a HaloTag lehetővé teszi a valós idejű képalkotást, és hatékony eszközt biztosít az élő sejtekben zajló nukleáris transzportmechanizmusok tanulmányozásához. Ezt a 252-es számú klónt a HaloTagged NUP96 stabil expressziója miatt választottuk ki, ami biztosítja a kísérleti elrendezésekben a konzisztens teljesítményt. Ez a tulajdonsága kiválóan alkalmassá teszi a nagy felbontású képalkotó technikák és a molekuláris kölcsönhatások vizsgálatára, ezáltal támogatva a fejlett sejtbiológiai kutatásokat, különösen a nukleáris működés és a genetikai szabályozás összefüggésében.

**Organism** Emberi

**Tissue** Csont

**Disease** Osteosarcoma

## Jellemzők

**Age** 15 év

**Gender** Női

**Ethnicity** Kaukázusi

**Morphology** Epithelszerű

**Growth properties** Adherent

## Szabályozási adatok

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

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

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

**CellosaurusAccession** CVCL\_B7FI**Depositor** Az Ellenberg Labor (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ez a humán oszteoszarkóma sejtvonala (U2OS-CRISPR-NUP96-Halo, 252-es klón) egy CRISPR-editált NUP96-Halo fúziót tartalmaz, amelyet lentivirális szállítással hoztak létre, lehetővé téve a nukleáris pórus komplexek fluoreszcens jelölését. A módosítás stabilan integrálódik. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.

## Biomolekuláris adatok

**Protein expression** NUP96-Halo (endogén nukleáris pórus komplex 96 fehérje, Halo jelöléssel)

## A kezelése

**Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/L glükóz, w: stabil glutamin, w: 2,0 mM nátrium-piruvát, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion cikkszám: 820200a)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  sejt/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvastás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

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

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

**Flask Coating**

Nincs

**Freezing  
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping  
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

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

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

### HLA allélok

**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