

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo ląstelės | 300448

Bendra informacija

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo yra genetiškai sukurta ląstelių linija, gauta iš žmogaus osteosarkomos U-2 OS ląstelių. Ši ląstelių linija modifikuota naudojant CRISPR-Cas9 technologiją, kad į NUP96 geno lokusą būtų įterptas HaloTag. NUP96, branduolinių porų komplekso dalis, atlieka svarbų vaidmenį branduolinio pernešimo ir ląstelių reguliavimo procese. HaloTag įterpimas leidžia tiksliai vizualizuoti ir biochemiškai apibūdinti NUP96 dinamiką ir sąveiką ląstelėje.

Palengvindamas fluorescencinių ligandų ar kitų zondų kovalentinį prijungimą, "HaloTag" leidžia atlikti vaizdavimą realiuoju laiku ir yra galingas įrankis tiriant branduolio pernašos mechanizmus gyvoose ląstelėse. Šis konkretus klonas, kurio numeris 252, buvo atrinktas dėl stabilios HaloTagged NUP96 raiškos, užtikrinančios pastovų veikimą eksperimentinėse sistemose. Dėl šios savybės jis labai tinka didelės skiriamosios gebos vaizdavimo metodams ir molekulinės sąveikos tyrimams, todėl padeda atlikti pažangius ląstelių biologijos tyrimus, ypač susijusius su branduolio funkcija ir genetiniu reguliavimu.

Organism Žmogus

Tissue Kaulas

Disease Osteosarkoma

Charakteristikos

Age 15 metų

Gender Moteris

Ethnicity Kaukaziečių

Morphology Į epitelį panašus

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

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

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo ląstelės | 300448

CellosaurusAccession CVCL_B7FI**Depositor** Ellenbergo laboratorija (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: šioje žmogaus osteosarkomos ląstelių linijoje (U2OS-CRISPR-NUP96-Halo, klonas 252) yra CRISPR redaguota NUP96-Halo sintezė, gauta naudojant lentivirusą, leidžianti fluorescenciniu būdu žymėti branduolio porų kompleksus. Modifikacija yra stabiliai integruota. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression NUP96-Halo (endogeninis branduolio porų komplekso baltymas 96, pažymėtas Halo)

Tvarkymas

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/l gliukozės, w: stabilus glutaminas, w: 2,0 mM natrio piruvatas, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820200a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Seeding density** 1×10^4 ląstelės/cm²**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

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

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

**Freezing
Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo ląstelės | 300448

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

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