Product sheet

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP ląstelės | 300444

Bendra informacija

Description	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP yra genetiškai modifikuota osteosarkomos ląstelių linija, gauta iš pagrindinės žmogaus ląstelių linijos U-2 OS. Ši ląstelių linija buvo sukurta naudojant CRISPR/Cas9 genomo redagavimo metodą, kad į NUP96 geną būtų įterpta SNAP žymė, leidžianti vizualizuoti ir tirti branduolio porų komplekso dinamiką. Branduolio porų kompleksai (NPC) yra labai svarbūs reguliuojant nukleocitoplazminį pernešimą, o NUP96 yra svarbi NPC sudedamoji dalis, atliekanti esminį vaidmenį jo struktūriniam vientisumui ir funkcijai. U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP klone Nr. 33 SNAP žymės integravimas į NUP96 lokusą leidžia specifiškai ir kovalentiškai prijungti fluorescencinius substratus ar kitus cheminius zondus, kurie gali būti naudojami gyvų ląstelių vaizdavimui ir kitiems biocheminiams tyrimams. Dėl šios savybės tai yra neįkainojama priemonė tiriant molekulinę nukleocitoplazminio pernešimo dinamiką, suprantant su NPC susijusias patologijas ir ieškant terapinių junginių, veikiančių NPC funkciją. Ląstelių linija taip pat išlaiko tėvinės U-2 OS linijos savybes, tarp kurių yra aukštas genetinio stabilumo lygis ir paprastas kultivavimas, todėl ji tinkama didelio našumo atrankinei patikrai ir išplėstiniams ląstelės biologijos tyrimams. Dėl NUP96 geno modifikacijos specifiškumo U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP klonas Nr. 33 yra unikalus modelis, skirtas išsamiai ištirti NPC komponentus ląstelės funkcijos ir disfunkcijos kontekste. Mokslininkai gali pasinaudoti SNAP žymėjimo sistema, kad selektyviai ir greitai paženklintų NUP96, taip palengvindami NPC dinamikos vizualizavimą realiuoju laiku fiziologinėmis ir patologinėmis sąlygomis. Šis specifinis klonas gali būti patikima platforma tiek fundamentiniams tyrimams, tiek taikomiesiems biomedicininiams tyrimams, reikšmingai prisidedanti prie ląstelės biologijos, genetikos ir onkologijos sričių.
Organism	Žmogus
Tissue	Kaulas
Disease	Osteosarkoma

Charakteristikos

Age	15 metų
Gender	Moteris
Ethnicity	Kaukaziečių
Growth properties	Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (Cytion katalogo numeris 300444)

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP ląstelės | 300444

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FL
Depositor	Ellenbergo laboratorija (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: šioje žmogaus osteosarkomos ląstelių linijoje (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, klonas 33) yra CRISPR sukurta NUP96-SNAP sintezė, palengvinanti branduolio porų cheminį žymėjimą SNAP žymekliu. Modifikacija yra stabiliai integruota. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression	NUP96-SNAP (branduolio porų komplekso baltymas 96, SNAP žymė)

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, 3,0 g/l gliukozės, stabiliu glutaminu, 2,0 mM natrio piruvato, 2,2 g/l NaHCO3, 1 % NEAA
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 perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Seeding density	1 x 10^4 ląstelės/cm^2
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP ląstelės | 300444

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.

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 perkelkite 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 % $_{CO2}$, 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 perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP ląstelės | 300444

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 perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
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 skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

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.