

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo šūnas | 300448

Vispārīga informācija

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo ir ģenētiski modificēta šūnu līnija, kas iegūta no cilvēka osteosarkomas U-2 OS šūnām. Šī šūnu līnija ir modificēta, izmantojot CRISPR-Cas9 tehnoloģiju, lai NUP96 gēna lokusā iekļautu HaloTag. NUP96, kas ir daļa no kodola poru kompleksa, ir būtiska loma kodola transportēšanā un šūnu regulēšanā. HaloTag ieviešana ļauj precīzi vizualizēt un bioķīmiski raksturot NUP96 dinamiku un mijiedarbību šūnā.

Atvieglot fluorescējošu ligandu vai citu zondju kovalentu piestiprināšanu, HaloTag ļauj veikt attēlošanu reāllaikā un nodrošina spēcīgu instrumentu kodola transporta mehānismu izpētei dzīvās šūnās. Šis konkrētais klons ar 252. numuru ir izvēlēts, lai nodrošinātu stabilu NUP96 ar HaloTag tagu ekspresiju, kas nodrošina nemainīgu veiktspēju eksperimentālajās iekārtās. Šī īpašība padara to ļoti piemērotu augstas izšķirtspējas attēlveidošanas metodēm un molekulārās mijiedarbības pētījumiem, tādējādi atbalstot progresīvus pētījumus šūnu bioloģijā, jo īpaši saistībā ar kodola funkciju un ģenētisko regulāciju.

Organism

Cilvēks

Tissue

Bone

Disease

Osteosarkoma

Raksturojums

Age

15 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

Epitēlijveidīgs

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo (Cytion kataloga numurs 300448)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo šūnas | 300448

CellosaurusAccession CVCL_B7FI**Depositor** Ellenberga laboratorija (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Šī cilvēka osteosarkomas šūnu līnija (U2OS-CRISPR-NUP96-Halo, 252. klons) satur CRISPR rediģētu NUP96-Halo fūziju, kas radīta, izmantojot lentivīrusu piegādi un ļauj fluorescējoši marķēt kodola poru kompleksus. Modifikācija ir stabili integrēta. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.**Biomolekulārie dati****Protein expression** NUP96-Halo (endogēnais kodola poru kompleksa proteīns 96, marķēts ar Halo)**Darbs ar****Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/l glikoze, w: stabils glutamīns, w: 2,0 mM nātrija piruvāts, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820200a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Seeding density** 1×10^4 šūnas/cm²**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanu un samazinātu krioinducēto stresu.

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

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo šūnas | 300448**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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