Product sheet

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP šūnas | 300444

Vispārīga informācija

Description	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP ir ģenētiski modificēta osteosarkomas šūnu līnija, kas iegūta no cilvēka cilmes U-2 OS šūnu līnijas. Šī šūnu līnija ir pārveidota, izmantojot CRISPR/Cas9 mediētu genoma rediģēšanu, iekļaujot NUP96 gēnu ar SNAP marķējumu, kas ļauj vizualizēt un pētīt kodola poru kompleksa dinamiku. Kodola poru kompleksiem (NPC) ir izšķiroša nozīme nukleoplazmas transporta regulēšanā, un NUP96 ir nozīmīga NPC sastāvdaļa, kurai ir izšķiroša nozīme tā strukturālajā integritātē un funkcijās. U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP klona Nr. 33 U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP klona Nr. 33 SNAP marķējuma integrācija NUP96 lokusā ļauj specifiski un kovalentā veidā pievienot fluorescējošus substrātus vai citas ķīmiskas zondes, ko var izmantot dzīvu šūnu attēlveidošanai un citiem bioķīmiskiem testiem. Šī īpašība padara to par nenovērtējamu rīku nukleocitoplazmas transporta molekulārās dinamikas izpētei, ar NPC saistītu patoloģiju izpratnei un terapeitisko savienojumu, kas ietekmē NPC funkciju, skrīningam. Šūnu līnija saglabā arī vecāku U-2 OS līnijas īpašības, kas ietver augstu ģenētiskās stabilitātes līmeni un ērtu kultivēšanu, padarot to piemērotu augstas veiktspējas skrīningam un plašākiem pētījumiem šūnu bioloģijā. Pateicoties modifikācijas specifiskumam NUP96 gēnā, U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP klons Nr. 33 ir unikāls modelis detalizētai NPC komponentu izpētei šūnu funkciju un disfunkcijas kontekstā. Pētnieki var izmantot SNAP marķēšanas sistēmu, lai selektīvi un ātri marķētu NUP96, atvieglojot NPC dinamikas vizualizāciju reāllaikā fizioloģiskos un patoloģiskos apstākļos. Šis īpašais klons var kalpot kā stabila platforma gan fundamentāliem pētījumiem, gan lietišķiem biomedicīnas pētījumiem, sniedzot nozīmīgu ieguldījumu šūnu bioloģijas, ģenētikas un onkoloģijas jomās.
Organism	Cilvēks
Tissue	Bone
Disease	Osteosarkoma

Raksturojums

Age	15 gadi
Gender	Sievietes
Ethnicity	Kaukāzietis
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (Cytion kataloga numurs 300444)

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP šūnas | 300444

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FL
Depositor	Ellenberga laboratorija (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Šī cilvēka osteosarkomas šūnu līnija (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, klons 33) satur CRISPR inženierijas NUP96-SNAP sintēzi, kas atvieglo kodola poru ķīmisko marķēšanu ar SNAP birku. Šī modifikācija ir stabili integrēta. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

Biomolekulārie dati

Protein expression	NUP96-SNAP (kodola poru kompleksa olbaltumviela 96, SNAP birka)

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, 3,0 g/l glikozes, stabilu glutamīnu, 2,0 mM nātrija piruvāta, 2,2 g/l NaHCO3, 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņemt 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/cm^2
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP šūnas | 300444

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 atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

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%$_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP šūnas | 300444

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.
Shipping Conditions	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.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms 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.