

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo cellen | 300448

Algemene informatie

Description

De U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo is een genetisch gemanipuleerde cellijn afgeleid van de menselijke osteosarcoom U-2 OS-cellen. Deze cellijn is gemodificeerd met CRISPR-Cas9-technologie om een HaloTag in te bouwen in de locus van het NUP96-gen. NUP96, onderdeel van het nucleaire poriëncomplex, speelt een cruciale rol in nucleair transport en cellulaire regulatie. De introductie van de HaloTag maakt nauwkeurige visualisatie en biochemische karakterisering mogelijk van de dynamica en interacties van NUP96 in de cel.

Door de covalente aanhechting van fluorescerende liganden of andere probes te vergemakkelijken, maakt de HaloTag real-time beeldvorming mogelijk en biedt het een krachtig hulpmiddel voor het bestuderen van de nucleaire transportmechanismen in levende cellen. Deze specifieke kloon, nummer 252, is geselecteerd vanwege de stabiele expressie van het HaloTagged NUP96, waardoor het consistent presteert in experimentele opstellingen. Deze eigenschap maakt het zeer geschikt voor hoge-resolutie beeldvormingstechnieken en moleculaire interactiestudies, waardoor geavanceerd onderzoek in de celbiologie wordt ondersteund, met name in de context van nucleaire functie en genetische regulatie.

Organism

Mens

Tissue

Bot

Disease

Osteosarcoom

Kenmerken

Age

15 jaar

Gender

Vrouw

Ethnicity

Kaukasisch

Morphology

Epitheelachtig

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation

U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo (Cytion catalogusnummer 300448)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo cellen | 300448

CellosaurusAccession CVCL_B7FI**Depositor** Het Ellenberg Lab (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Deze menselijke osteosarcomocellijn (U2OS-CRISPR-NUP96-Halo, kloon 252) bevat een CRISPR-gemodificeerde NUP96-Halo fusie gegenereerd via lentivirale toediening, waardoor fluorescente labeling van nucleaire poriëcomplexen mogelijk is. De modificatie is stabiel geïntegreerd. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders afwijken.**Biomoleculaire gegevens****Protein expression** NUP96-Halo (endogeen eiwit van het nucleaire poriëcomplex 96, gemerkt met Halo)**Omgaan met****Culture Medium** McCoy's 5a, w: 3,0 g/L Glucose, w: stabiel Glutamine, w: 2,0 mM Natriumpyruvaat, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820200a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.**Split ratio** Een verhouding van 1:3 tot 1:4 wordt aanbevolen**Seeding density** 1×10^4 cellen/cm²**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo cellen | 300448

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo cellen | 300448

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

CSF1PO: 13,14
D13S317: 13,13
D16S539: 9,11
D5S818: 11,12
D7S820: 11,12
TH01: 9,3,9,3
TPOX: 11,12
vWA: 14,18
D3S1358: 16,16
D21S11: 31,32
D18S51: 12,14
Penta E: 10,13
Penta D: 9,9
D8S1179: 12,14
FGA: 20,20

HLA-allelen

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