

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo-celler | 300448

Generell informasjon

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo er en genmodifisert cellelinje som er avledet fra de humane osteosarkomcellene U-2 OS. Denne cellelinjen er modifisert ved hjelp av CRISPR-Cas9-teknologi for å inkorporere en HaloTag ved NUP96-genet. NUP96, som er en del av kjerneporkomplekset, spiller en viktig rolle i kjernetransport og celleregulering. Introduksjonen av HaloTag gjør det mulig å visualisere og biokjemisk karakterisere NUP96s dynamikk og interaksjoner i cellen.

Ved å legge til rette for kovalent feste av fluorescerende ligander eller andre prober, muliggjør HaloTag avbildning i sanntid og gir et kraftig verktøy for å studere nukleære transportmekanismer i levende celler. Denne klonen, nummer 252, er valgt ut på grunn av sitt stabile uttrykk av HaloTagged NUP96, noe som sikrer konsekvent ytelse i eksperimentelle oppsett. Denne egenskapen gjør den svært godt egnet for høyoppløselige avbildningsteknikker og molekylære interaksjonsstudier, og støtter dermed avansert forskning innen cellebiologi, spesielt i forbindelse med kjernefunksjon og genetisk regulering.

Organism

Menneskelig

Tissue

Bein

Disease

Osteosarkom

Kjennetegn

Age

15 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Epitel-lignende

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

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

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo-celler | 300448

CellosaurusAccession CVCL_B7FI**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Denne humane osteosarkomcellelinjen (U2OS-CRISPR-NUP96-Halo, klonen 252) inneholder en CRISPR-redigert NUP96-Halo-fusjon generert via lentiviral levering, noe som muliggjør fluorescerende merking av kjerneporkomplekser. Modifikasjonen er stabilt integrert. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan avvike andre steder.**Biomolekylære data****Protein expression** NUP96-Halo (endogent kjernepore-kompleks protein 96, Halo-merket)**Håndtering****Culture Medium** McCoys 5a, m: 3,0 g/L glukose, m: stabil glutamin, m: 2,0 mM natriumpyruvat, m: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820200a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** Et forhold på 1:3 til 1:4 anbefales**Seeding density** 1×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo-celler | 300448

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysnet ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkningsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo-celler | 300448**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA**Sterility**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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-alleler

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