

Celule U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448

Informații generale

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo este o linie celulară modificată genetic derivată din celulele osteosarcomului uman U-2 OS. Această linie celulară a fost modificată cu ajutorul tehnologiei CRISPR-Cas9 pentru a încorpora un HaloTag la locusul genei NUP96. NUP96, parte a complexului porului nuclear, joacă un rol esențial în transportul nuclear și în reglarea celulară. Introducerea HaloTag permite vizualizarea precisă și caracterizarea biochimică a dinamicii și interacțiunilor NUP96 în cadrul celulei.

Prin facilitarea atașării covalente a liganzilor fluorescenți sau a altor sonde, HaloTag permite imagistica în timp real și oferă un instrument puternic pentru studierea mecanismelor de transport nuclear în celulele vii. Această clonă specială, numărul 252, a fost selectată pentru expresia sa stabilă a NUP96 HaloTagged, asigurând performanțe constante în configurațiile experimentale. Această caracteristică o face foarte potrivită pentru tehnici de imagistică de înaltă rezoluție și studii de interacțiune moleculară, sprijinind astfel cercetarea avansată în biologia celulară, în special în contextul funcției nucleare și al reglării genetice.

Organism Om

Tissue Os

Disease Osteosarcom

Caracteristici

Age 15 ani

Gender Femei

Ethnicity Caucazian

Morphology De tip epitelial

Growth properties Aderent

Date de reglementare

Citation U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo (număr de catalog Cytion 300448)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Celule U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448

CellosaurusAccession CVCL_B7FI**Depositor** Laboratorul Ellenberg (EMBL)**GMO Status** OMG-S1: Această linie celulară de osteosarcom uman (U2OS-CRISPR-NUP96-Halo, clona 252) conține o fuziune NUP96-Halo editată prin CRISPR generată prin livrare lentivirală, care permite marcarea fluorescență a complexelor porilor nucleari. Modificarea este integrată stabil. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.

Date biomoleculare

Protein expression NUP96-Halo (proteina endogenă 96 a complexului porilor nucleari, marcată cu Halo)

Manipulare

Culture Medium McCoys 5a, cu: 3,0 g/L glucoză, cu: glutamină stabilă, cu: 2,0 mM piruvat de sodiu, cu: 2,2 g/L NaHCO₃ (numărul articolului Cytion 820200a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.**Seeding density** 1×10^4 celule/cm²**Fluid renewal** de 2 până la 3 ori pe săptămână**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Alele HLA

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