

Celule U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Informații generale

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP este o linie celulară de osteosarcom modificată genetic, derivată din linia celulară umană mamă U-2 OS. Această linie celulară a fost modificată prin editarea genomului mediată de CRISPR/Cas9 pentru a încorpora o etichetă SNAP la gena NUP96, permițând vizualizarea și studierea dinamicii complexului de pori nucleari. Complexele de pori nucleari (NPC) sunt cruciale pentru reglarea transportului nucleocitoplasmatic, iar NUP96 este o componentă semnificativă a NPC, jucând un rol esențial în integritatea structurală și funcția sa.

În clona U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP nr. 33, integrarea etichetei SNAP la locusul NUP96 permite atașarea specifică și covalentă a substraturilor fluorescente sau a altor sonde chimice care pot fi utilizate pentru imagistica celulelor vii și alte teste biochimice. Această caracteristică o face un instrument neprețuit pentru investigarea dinamicii moleculare a transportului nucleocitoplasmatic, pentru înțelegerea patologiilor legate de NPC și pentru depistarea compușilor terapeutici care afectează funcția NPC. Linia celulară păstrează, de asemenea, caracteristicile liniei parentale U-2 OS, care include un nivel ridicat de stabilitate genetică și ușurința de cultivare, ceea ce o face potrivită pentru screening de mare capacitate și studii extinse în biologia celulară.

Datorită specificității modificării genei NUP96, clona U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP nr.33 oferă un model unic pentru studiul detaliat al componentelor NPC în contextul funcției și disfuncției celulare. Cercetătorii pot exploata sistemul SNAP-tag pentru a marca selectiv și rapid NUP96, facilitând vizualizarea în timp real a dinamicii NPC în condiții fiziologice și patologice. Această clonă specifică poate servi ca o platformă robustă atât pentru cercetarea fundamentală, cât și pentru studiile biomedicale aplicate, contribuind semnificativ la domeniile biologiei celulare, geneticii și oncologiei.

Organism Om

Tissue Os

Disease Osteosarcom

Caracteristici

Age 15 ani

Gender Femei

Ethnicity Caucazian

Growth properties Aderent

Date de reglementare

Celule U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (număr de catalog Cytion 300444)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FL
Depositor	Laboratorul Ellenberg (EMBL)
GMO Status	OMG-S1: Această linie celulară de osteosarcom uman (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, clona 33) conține o fuziune NUP96-SNAP modificată prin CRISPR care facilitează marcarea chimică a porilor nucleari cu SNAP-tag. Modificarea este integrată stabil. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.

Date biomoleculare

Protein expression	NUP96-SNAP (proteina 96 a complexului porilor nucleari, SNAP-tag)
---------------------------	---

Manipulare

Culture Medium	McCoy's 5a, cu: 3,0 g/L glucoză, cu: glutamină stabilă, cu: 2,0 mM piruvat de sodiu, cu: 2,2 g/L NaHCO ₃ (numărul articolului Cytion 820200a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS, 3,0 g/L glucoză, glutamină stabilă, 2,0 mM piruvat de sodiu, 2,2 g/L NaHCO ₃ , 1% NEAA
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 x 10 ⁴ celule/cm ²
Fluid renewal	de 2 până la 3 ori pe săptămână

Celule U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444**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.

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 subkultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Linii 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-SNAP | 300444

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.

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.