

**Bunky U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461****Všeobecné informácie****Description**

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple je geneticky upravená bunková línia osteosarkómu odvodená od ľudskej bunkovej línie U-2 OS, ktorá je známa svojimi robustnými rastovými vlastnosťami a využiteľnosťou v rôznych biologických štúdiách. Tento konkrétny klon bol upravený pomocou technológie úpravy génov CRISPR/Cas9 tak, aby sa do génu NUP96 začlenil mMaple, fotokonvertibilný fluorescenčný proteín. Proteín mMaple umožňuje pokročilé zobrazovacie techniky, ako je zobrazovanie živých buniek a mikroskopia so superrozlíšením, ktoré poskytujú dynamický pohľad na správanie komplexu jadrových pórov (NPC) a mechanizmy bunkového importu a exportu cez jadrový obal.

Gén NUP96, ktorý kóduje kľúčovú zložku NPC, je nevyhnutný pre nukleocytoplazmatický transport. Zmena NUP96 môže ovplyvniť nielen transportné mechanizmy, ale aj celkovú jadrovú architektúru a funkciu. Táto bunková línia tak slúži ako vynikajúci model na štúdium patológií súvisiacich s NPC a úlohy jadrového transportu v bunkovom metabolizme a signalizácii. Integrácia mMaple do NUP96 umožňuje sledovanie a vizualizáciu dynamiky NUP96 v reálnom čase in vivo, čím sa stáva nepostrádateľným nástrojom pre výskumníkov zameraných na štúdium bunkového jadra a tých, ktorí skúmajú dôsledky dysfunkcií NPC pri ochoreniach, ako sú rakovina a vírusové infekcie.

Ako špecializovaný nástroj U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple klon č. 16 podporuje zobrazovanie s vysokým rozlíšením a poskytuje podstatné údaje týkajúce sa priestorovej a časovej distribúcie zložiek NPC. Je obzvlášť cenný pri experimentoch vyžadujúcich podrobnú analýzu expresie génov, lokalizácie proteínov a jadrového transportu za fyziologických a patologických podmienok, čo uľahčuje hlbšie pochopenie bunkových procesov na molekulárnej úrovni.

<b>Organism</b>	Ľudské
<b>Tissue</b>	Kosti
<b>Disease</b>	Osteosarkóm

**Charakteristika**

<b>Age</b>	15 rokov
<b>Gender</b>	Ženy
<b>Ethnicity</b>	Kaukazský
<b>Growth properties</b>	Adherent

**Regulačné údaje**

**Bunky U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461**

<b>Citation</b>	U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (katalógové číslo Cytion 300461)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_B7FK
<b>Depositor</b>	Ellenbergova laboratória (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Táto ľudská osteosarkómová bunková línia (U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple, klon 16) obsahuje fúziu NUP96-mMaple sprostredkovanú CRISPR, ktorá umožňuje fotokonvertibilné značenie štruktúr jadrových pórov. Konštrukt je stabilne prítomný. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.

**Biomolekulárne údaje**

<b>Protein expression</b>	NUP96-mMaple (endogénny proteín jadrového pórového komplexu 96, značený mMaple)
---------------------------	---

**Spracovanie**

<b>Culture Medium</b>	McCoy's 5a, w: 3,0 g/l glukóza, w: stabilný glutamín, w: 2,0 mM pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO <sub>3</sub> (číslo článku Cytion 820200a)
<b>Supplements</b>	Doplňte médium o 10% FBS, 1% NEAA
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
<b>Seeding density</b>	1 x 10 <sup>4</sup> buniek/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 až 3-krát týždenne

**Bunky U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461****Freeze medium**

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating**

Žiadne

**Freezing Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.