

Bunky U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448**Všeobecné informácie****Description**

U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo je geneticky upravená bunková línia odvodená od ľudských buniek osteosarkómu U-2 OS. Táto bunková línia bola modifikovaná pomocou technológie CRISPR-Cas9 tak, aby obsahovala značku HaloTag v lokuse génu NUP96. NUP96, súčasť komplexu jadrových pórov, zohráva kľúčovú úlohu v jadrovom transporte a bunkovej regulácii. Zavedenie HaloTag umožňuje presnú vizualizáciu a biochemickú charakterizáciu dynamiky a interakcií NUP96 v bunke.

Vďaka uľahčeniu kovalentného pripojenia fluorescenčných ligandov alebo iných sond umožňuje HaloTag zobrazovanie v reálnom čase a poskytuje výkonný nástroj na štúdium mechanizmov jadrového transportu v živých bunkách. Tento konkrétny klon s číslom 252 bol vybraný pre svoju stabilnú expresiu NUP96 s označením HaloTag, čo zabezpečuje konzistentný výkon v experimentálnych zostavách. Vďaka tejto vlastnosti je veľmi vhodný na zobrazovacie techniky s vysokým rozlíšením a štúdie molekulárnych interakcií, čím podporuje pokročilý výskum v bunkovej biológii, najmä v kontexte jadrovej funkcie a genetickej regulácie.

Organism Ľudské**Tissue** Kosti**Disease** Osteosarkóm**Charakteristika****Age** 15 rokov**Gender** Ženy**Ethnicity** Kaukazský**Morphology** Epitelu podobné**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo (katalógové číslo Cytion 300448)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606

Bunky U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448**CellosaurusAccession** CVCL_B7FI**Depositor** Ellenbergova laboratória (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Táto ľudská osteosarkómová bunková línia (U2OS-CRISPR-NUP96-Halo, klon 252) obsahuje CRISPR-editovanú fúziu NUP96-Halo vytvorenú prostredníctvom lentivírusového prenosu, ktorá umožňuje fluorescenčné značenie komplexov jadrových pórov. Modifikácia je stabilne integrovaná. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.**Biomolekulárne údaje****Protein expression** NUP96-Halo (endogénny proteín jadrového pórového komplexu 96, značený Halo)**Spracovanie****Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukóza, w: stabilný glutamín, w: 2,0 mM pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (číslo článku Cytion 820200a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** 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.**Seeding density** 1 x 10⁴ buniek/cm²**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**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.

Bunky U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448**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 % 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.

**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.

Bunky U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448

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.

Alely 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