Product sheet

Bunky U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Všeobecné informácie

Description	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP je geneticky modifikovaná línia osteosarkómových buniek odvodená od materskej ľudskej bunkovej línie U-2 OS. Táto bunková línia bola upravená pomocou editácie genómu sprostredkovanej CRISPR/Cas9 tak, aby obsahovala značku SNAP na géne NUP96, čo umožňuje vizualizáciu a štúdium dynamiky komplexu jadrových pórov. Komplexy jadrových pórov (NPC) sú kľúčové pre reguláciu nukleocytoplazmatického transportu a NUP96 je významnou zložkou NPC, ktorá zohráva kľúčovú úlohu v jeho štrukturálnej integrite a funkcii. V klone U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP č. 33 umožňuje integrácia značky SNAP do lokusu NUP96 špecifické a kovalentné pripojenie fluorescenčných substrátov alebo iných chemických sond, ktoré možno použiť na zobrazovanie živých buniek a iné biochemické testy. Táto vlastnosť z neho robí neoceniteľný nástroj na skúmanie molekulárnej dynamiky nukleocytoplazmatického transportu, pochopenie patológií súvisiacich s NPC a skríning terapeutických zlúčenín, ktoré ovplyvňujú funkciu NPC. Bunková línia si tiež zachováva vlastnosti rodičovskej línie U-2 OS, medzi ktoré patrí vysoká úroveň genetickej stability a jednoduchosť kultivácie, vďaka čomu je vhodná na vysoko výkonný skríning a rozšírené štúdie v bunkovej biológii. Vďaka špecifickosti modifikácie na géne NUP96 poskytuje klon č. 33 U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP jedinečný model na podrobné štúdium zložiek NPC v kontexte bunkovej funkcie a dysfunkcie. Výskumníci môžu využiť systém SNAP-tag na selektívne a rýchle značenie NUP96, čo uľahčuje vizualizáciu dynamiky NPC v reálnom čase za fyziologických a patologických podmienok. Tento špecifický klon môže slúžiť ako robustná platforma pre základný výskum aj aplikované biomedicínske štúdie, čím významne prispeje k rozvoju oblastí bunkovej biológie, genetiky a onkológie.
Organism	Ľudské
Tissue	Kosti
Disease	Osteosarkóm

Charakteristika

Age	15 rokov
Gender	Ženy
Ethnicity	Kaukazský
Growth properties	Adherent

Regulačné údaje

Bunky U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (katalógové číslo Cytion 300444)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FL
Depositor	Ellenbergova laboratória (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Táto ľudská osteosarkómová bunková línia (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, klon 33) obsahuje fúziu NUP96-SNAP vytvorenú pomocou CRISPR, ktorá uľahčuje chemické značenie jadrových pórov pomocou značky SNAP. Modifikácia je stabilne integrovaná. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.

Biomolekulárne údaje

Protein expression	NUP96-SNAP (proteín jadrového pórového komplexu 96, značka SNAP)

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	Doplňte médium o 10 % FBS, 3,0 g/l glukózy, stabilný glutamín, 2,0 mM pyruvát sodný, 2,2 g/l NaHCO3, 1 % NEAA
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 odstreďujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Seeding density	1×10^4 buniek/cm^2
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne

Bunky U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné 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 kryo.

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 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom.**

Bunky U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

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