

Celice U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448**Splošne informacije****Description**

U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo je gensko spremenjena celična linija, ki izhaja iz celic človeškega osteosarkoma U-2 OS. Ta celična linija je bila spremenjena s tehnologijo CRISPR-Cas9, tako da je na lokaciji gena NUP96 vgrajena oznaka HaloTag. NUP96, ki je del kompleksa jedrnih por, ima ključno vlogo pri jedrskem transportu in celični regulaciji. Uvedba oznake HaloTag omogoča natančno vizualizacijo in biokemično opredelitev dinamike in interakcij NUP96 v celici.

S kovalentno pritrditvijo fluorescenčnih ligandov ali drugih sond omogoča HaloTag slikanje v realnem času in zagotavlja močno orodje za preučevanje mehanizmov jedrskega transporta v živih celicah. Ta posebni klon, številka 252, je bil izbran zaradi stabilnega izražanja NUP96 z oznako HaloTag, kar zagotavlja dosledno delovanje v eksperimentalnih postavitvah. Zaradi te lastnosti je zelo primeren za tehnike slikanja z visoko ločljivostjo in študije molekularnih interakcij, s čimer podpira napredne raziskave v celični biologiji, zlasti v okviru jedrskega delovanja in genetske regulacije.

Organism

Človek

Tissue

Kosti

Disease

Osteosarkom

Značilnosti**Age**

15 let

Gender

Ženske

Ethnicity

Kavkaški

Morphology

Epitelijam podobni

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki**Citation**

U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo (kataloška številka Cytion 300448)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

Celice U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448**CellosaurusAccession** CVCL_B7FI**Depositor** Laboratorij Ellenberg (EMBL)

GMO Status GSO-S1: Ta celična linija človeškega osteosarkoma (U2OS-CRISPR-NUP96-Halo, klon 252) vsebuje s CRISPR urejeno fuzijo NUP96-Halo, ustvarjeno z lentivirusnim prenosom, ki omogoča fluorescenčno označevanje kompleksov jedrnih por. Modifikacija je stabilno integrirana. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.

Biomolekularni podatki

Protein expression NUP96-Halo (endogeni protein kompleksa jedrskih por 96, označen s Halo)

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/L glukoze, w: stabilen glutamin, w: 2,0 mM natrijevega piruvata, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820200a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Seeding density 1×10^4 celic/cm²

Fluid renewal 2 do 3-krat na teden

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Celice U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448**Thawing and
Culturing Cells**

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

**Freezing
Procedure**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

**Shipping
Conditions**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Aleli 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