Product sheet

Celice U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Splošne informacije

Description	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP je gensko spremenjena celična linija osteosarkoma, ki izhaja iz osnovne človeške celične linije U-2 OS. Ta celična linija je bila z urejanjem genoma s pomočjo CRISPR/Cas9 spremenjena tako, da je v gen NUP96 vključila oznako SNAP, kar omogoča vizualizacijo in preučevanje dinamike kompleksa jedrnih por. Kompleksi jedrskih por (NPC) so ključni za uravnavanje nukleocitoplazemskega transporta, NUP96 pa je pomembna sestavina NPC, ki ima ključno vlogo pri njegovi strukturni celovitosti in delovanju. V klonu U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP št. 33 omogoča vključitev oznake SNAP v lokus NUP96 specifično in kovalentno pritrditev fluorescenčnih substratov ali drugih kemičnih sond, ki se lahko uporabljajo za slikanje živih celic in druge biokemične preskuse. Zaradi te lastnosti je to neprecenljivo orodje za raziskovanje molekularne dinamike nukleocitoplazemskega transporta, razumevanje patologij, povezanih z NPC, in iskanje terapevtskih spojin, ki vplivajo na delovanje NPC. Celična linija ohranja tudi značilnosti starševske linije U-2 OS, ki vključujejo visoko stopnjo genetske stabilnosti in enostavnost gojenja, zaradi česar je primerna za visoko zmogljivo presejanje in razširjene študije v celični biologiji. Zaradi specifičnosti modifikacije na genu NUP96 je klon U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP št. 33 edinstven model za podrobno preučevanje komponent NPC v okviru celičnega delovanja in disfunkcije. Raziskovalci lahko izkoristijo sistem oznak SNAP za selektivno in hitro označevanje NUP96, kar omogoča vizualizacijo dinamike NPC v realnem času v fizioloških in patoloških pogojih. Ta specifični klon lahko služi kot robustna platforma za temeljne raziskave in uporabne biomedicinske študije ter pomembno prispeva k razvoju področij celične biologije, genetike in onkologije.
Organism	Človek
Tissue	Kosti
Disease	Osteosarkom

Značilnosti

Age	15 let
Gender	Ženske
Ethnicity	Kavkaški
Growth properties	Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (kataloška številka Cytion 300444)

Product sheet

Celice U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FL
Depositor	Laboratorij Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GSO-S1: Ta celična linija človeškega osteosarkoma (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, klon 33) vsebuje z inženiringom CRISPR izdelano sintezo NUP96-SNAP, ki omogoča kemično označevanje jedrnih por z oznako SNAP. Modifikacija je stabilno integrirana. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.

Biomolekularni podatki

Protein expression	NUP96-SNAP (protein kompleksa jedrskih por 96, oznaka SNAP)

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, 3,0 g/L glukoze, stabilnim glutaminom, 2,0 mM natrijevega piruvata, 2,2 g/L NaHCO3, 1 % NEAA
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. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
Seeding density	1 x 10^4 celic/cm^2
Fluid renewal	2 do 3-krat na teden

Celice U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

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.

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 zavrzite 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 % $_{CO2}$, 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 viale 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 viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.
Storage Conditions	Za dolgotrajno shranjevanje viale 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.