

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo Hücreleri | 300448

Genel bilgi

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo, insan osteosarkomu U-2 OS hücrelerinden türetilen genetik olarak tasarlanmış bir hücre hattıdır. Bu hücre hattı, NUP96 gen lokusuna bir HaloTag eklemek için CRISPR-Cas9 teknolojisi kullanılarak modifiye edilmiştir. Nükleer gözenek kompleksinin bir parçası olan NUP96, nükleer taşıma ve hücresel düzenlemede kritik bir rol oynamaktadır. HaloTag'in eklenmesi, NUP96'nın hücre içindeki dinamiklerinin ve etkileşimlerinin hassas bir şekilde görselleştirilmesine ve biyokimyasal karakterizasyonuna olanak tanır.

HaloTag, floresan ligandların veya diğer problemlerin kovalent olarak bağlanmasını kolaylaştırarak gerçek zamanlı görüntülemeyi mümkün kılmakta ve canlı hücrelerdeki nükleer taşıma mekanizmalarını incelemek için güçlü bir araç sağlamaktadır. Bu özel klon, 252 numara, HaloTagged NUP96'nın kararlı ifadesi için seçilmiştir ve deneysel kurulumlarda tutarlı performans sağlar. Bu özellik, onu yüksek çözünürlüklü görüntüleme teknikleri ve moleküler etkileşim çalışmaları için son derece uygun hale getirmekte ve böylece hücresel biyolojide, özellikle nükleer işlev ve genetik düzenleme bağlamında ileri araştırmaları desteklemektedir.

Organism

İnsan

Tissue

Kemik

Disease

Osteosarkom

Özellikler

Age

15 yıl

Gender

Kadın

Ethnicity

Kafkas

Morphology

Epitel benzeri

Growth properties

Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation

U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo (Cytion katalog numarası 300448)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo Hücreleri | 300448

CellosaurusAccession CVCL_B7FI**Depositor** Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Bu insan osteosarkom hücre hattı (U2OS-CRISPR-NUP96-Halo, klon 252), lentiviral dağıtım yoluyla oluşturulan ve nükleer gözenek komplekslerinin floresan etiketlenmesini sağlayan CRISPR ile düzenlenmiş bir NUP96-Halo füzyonu içerir. Modifikasyon stabil olarak entegre edilmiştir. Bu sınıflandırma sadece Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Protein expression NUP96-Halo (endojen nükleer gözenek kompleksi proteini 96, Halo etiketli)

Elleçleme

Culture Medium McCoys 5a, w: 3.0 g/L Glukoz, w: stabil Glutamin, w: 2.0 mM Sodyum piruvat, w: 2.2 g/L NaHCO₃ (Cytion makale numarası 820200a)

Supplements Ortamı %10 FBS ile takviye edin

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

Seeding density 1×10^4 hücre/cm²

Fluid renewal haftada 2 ila 3 kez

Freeze medium Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

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

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

**Freezing
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo Hücreleri | 300448

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

HLA alelleri

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