

## Клітини U2OS-CRISPR-TPR-SNAP | 300667

## Загальна інформація

## Description

U2OS-CRISPR-TPR-SNAP — це генетично модифікована лінія клітин остеосаркоми людини, отримана з клітин U2OS, в яких ендogenous ген TPR (Translocated Promoter Region) був модифікований за допомогою технології CRISPR/Cas9 для кодування SNAP-мітки в рамці зчитування. TPR — це великий спіральний нуклеопорин, який локалізується в ядерному кошику на нуклеоплазматичній стороні ядерного пористого комплексу (NPC). Завдяки мітці TPR в його ендogenous локусі, фузійний білок експресується під нативним регуляторним контролем, зберігаючи фізіологічні рівні експресії та підтримуючи належне включення в структуру ядерного кошика.

SNAP-тег дозволяє ковалентно мітити TPR бензилгуанін-кон'югованими флуоресцентними субстратами в живих або фіксованих клітинах, забезпечуючи високу специфічність і стабільність візуалізації. У клітинах U2OS-CRISPR-TPR-SNAP мічений TPR демонструє характерний точковий кільцеподібний розподіл на ядерній оболонці, що відповідає структурам ядерного кошика, пов'язаним з NPC. Ця система добре підходить для кількісної флуоресцентної мікроскопії, зображення з надвисокою роздільною здатністю, мічення методом імпульсного переслідування та динамічних досліджень складання та обороту ядерного кошика. Плоска морфологія та великі ядра клітин U2OS сприяють зображенню структур, пов'язаних з ядерною оболонкою, з високою роздільною здатністю.

TPR відіграє важливу роль в експорті мРНК, регуляції ядерного транспорту, організації хроматину на периферії ядра та просторовій організації геному. TPR також бере участь у формуванні субкомпартментів, пов'язаних з ядерним транспортом, та у виключенні гетерохроматину з областей, пов'язаних з ядерними порами. U2OS-CRISPR-TPR-SNAP забезпечує фізіологічно релевантну модель для аналізу архітектури та динаміки ядерного кошика, дослідження механізмів ядерно-цитоплазматичного транспорту та вивчення взаємодій хроматину, пов'язаних з ядерною оболонкою, в умовах ендogenous експресії.

**Organism** Людина

**Tissue** Кость

**Disease** Остеосаркома

**Metastatic site** Локалізація первинної пухлини (кістка)

**Applications** Біологія ядерного кошика; експорт мРНК за участю ТРП; регуляція ядерно-цитоплазматичного транспорту; організація хроматину на периферії ядра; субкомпартменти ядерного транспорту; просторова організація геному; мікроскопія надвисокої роздільної здатності; мічення методом «пульс-чейз» за допомогою SNAP; виключення гетерохроматину з ділянок, пов'язаних із порами

## Характеристики

**Age** 15 років

**Gender** Жінка

## Клітини U2OS-CRISPR-TPR-SNAP | 300667

<b>Ethnicity</b>	Кавказець
<b>Morphology</b>	Епітеліальноподібні
<b>Cell type</b>	Епітеліальні клітини (остеосаркома)
<b>Growth properties</b>	Адепт

## Нормативні дані

<b>Citation</b>	U2OS-CRISPR-TPR-SNAP (каталожний номер за каталогом Cytion 300667)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	Не визначено (похідна лінії U2OS, модифікована за допомогою CRISPR; батьківська лінія U2OS CVCL_0042)
<b>Depositor</b>	Лабораторія Елленберга (EMBL)
<b>GMO Status</b>	ГМО-S1: Ця лінія клітин остеосаркоми людини (U2OS-CRISPR-TPR-SNAP) містить злиття TPR-SNAP, сконструйоване за допомогою CRISPR, що дозволяє флуоресцентне та хімічне мічення білка ядерного кошика TPR. Конструкція стабільно інтегрована. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятись в інших країнах.

## Біомолекулярні дані

<b>Protein expression</b>	TPR, SNAP-мітка
---------------------------	-----------------

## Обробка

<b>Culture Medium</b>	McCoys 5a, w: 3,0 г/л Глюкоза, w: стабільна Глютамін, w: 2,0 мМ Піруват натрію, w: 2,2 г/л NaHCO <sub>3</sub> (Cytion article number 820200a)
<b>Supplements</b>	Додайте до середовища 10% FBS, 3,0 г/л глюкози, стабільний глютамін, 2,0 мМ пірувату натрію, 2,2 г/л NaHCO <sub>3</sub> , 1% NEAA
<b>Dissociation Reagent</b>	Аккутаза

## Клітини U2OS-CRISPR-TPR-SNAP | 300667

**Doubling time**      приблизно від 24 до 36 годин

**Subculturing**      Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини акутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

**Split ratio**      від 1 до 3

**Seeding density**      від 1 до  $3 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup>

**Fluid renewal**      2-3 рази на тиждень

**Freeze medium**      Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення криоіндукованого стресу.

## Клітини U2OS-CRISPR-TPR-SNAP | 300667

### Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

### Flask Coating

Ні

### Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно  $-78^{\circ}\text{C}$  під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

## Клітини U2OS-CRISPR-TPR-SNAP | 300667

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.