

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo-клітини | 300448

Загальна інформація

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo - це генно-інженерна клітинна лінія, отримана з клітин остеосаркоми людини U-2 OS. Цю клітинну лінію було модифіковано за допомогою технології CRISPR-Cas9 для включення HaloTag в локус гена NUP96. NUP96, що входить до складу комплексу ядерних пор, відіграє важливу роль у ядерному транспорті та клітинній регуляції. Введення HaloTag дозволяє точно візуалізувати та біохімічно характеризувати динаміку та взаємодію NUP96 в клітині.

Полегшуючи ковалентне приєднання флуоресцентних лігандів або інших зондів, HaloTag дозволяє проводити візуалізацію в режимі реального часу і є потужним інструментом для вивчення механізмів ядерного транспорту в живих клітинах. Цей конкретний клон, номер 252, був обраний за його стабільну експресію HaloTagged NUP96, що забезпечує стабільну продуктивність в експериментальних установках. Ця особливість робить його дуже придатним для методів візуалізації з високою роздільною здатністю та вивчення молекулярних взаємодій, тим самим підтримуючи передові дослідження в галузі клітинної біології, зокрема, в контексті ядерної функції та генетичної регуляції.

Organism

Людина

Tissue

Кость

Disease

Остеосаркома

Характеристики

Age

15 років

Gender

Жінка

Ethnicity

Кавказець

Morphology

Епітеліальноподібні

Growth properties

Адепт

Нормативні дані

Citation

U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo (номер за каталогом Cytion 300448)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo-клітини | 300448

CellosaurusAccession CVCL_B7FI**Depositor** Лабораторія Елленберга (EMBL)**GMO Status** ГМО-S1: Ця лінія клітин остеосаркоми людини (U2OS-CRISPR-NUP96-Halo, клон 252) містить злиття NUP96-Halo, відредаговане CRISPR, що генерується за допомогою лентівірусної доставки, що дозволяє флуоресцентне мічення ядерних порових комплексів. Модифікація стабільно інтегрована. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.**Біомолекулярні дані****Protein expression** NUP96-Halo (ендогенний білок комплексу ядерних пор 96, мічений Halo)**Обробка****Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 г/л Глюкоза, w: стабільна Глутамін, w: 2,0 мМ Піруват натрію, w: 2,2 г/л NaHCO₃ (Cytion article number 820200a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS**Dissociation Reagent** Аккутаза**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 аккутазою, 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.**Seeding density** 1×10^4 клітин/см²**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.

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo-клітини | 300448**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 криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°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 криовіал 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°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній 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.

U2OS-CRISPR-NUP96-Halo-клітини | 300448

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.

HLA алелі

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