

Клітини U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Загальна інформація

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP - це генетично модифікована лінія клітин остеосаркоми, отримана з батьківської лінії клітин людини U-2 OS. Ця лінія клітин була сконструйована за допомогою редагування геному за допомогою CRISPR/Cas9 для включення SNAP-мітки в ген NUP96, що дозволяє візуалізувати та вивчати динаміку ядерних порових комплексів. Ядерно-порові комплекси (ЯПК) мають вирішальне значення для регуляції нуклеоцитоплазматичного транспорту, а NUP96 є важливим компонентом ЯПК, відіграючи ключову роль у його структурній цілісності та функціонуванні.

В U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP клоні №33 інтеграція SNAP-мітки в локусі NUP96 дозволяє специфічно і ковалентно приєднувати флуоресцентні субстрати або інші хімічні зонди, які можна використовувати для візуалізації живих клітин та інших біохімічних аналізів. Ця особливість робить її безцінним інструментом для дослідження молекулярної динаміки нуклеоцитоплазматичного транспорту, розуміння патологій, пов'язаних з NPC, та скринінгу терапевтичних сполук, які впливають на функцію NPC. Клітинна лінія також зберігає характеристики батьківської лінії U-2 OS, що включає високий рівень генетичної стабільності та простоту культивування, що робить її придатною для високопродуктивного скринінгу та розширених досліджень в галузі клітинної біології.

Завдяки специфічності модифікації в гені NUP96, клон U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP №33 є унікальною моделлю для детального вивчення компонентів NPC в контексті клітинної функції та дисфункції. Дослідники можуть використовувати систему SNAP-міток для селективного та швидкого мічення NUP96, що полегшує візуалізацію динаміки NPC в реальному часі за фізіологічних та патологічних умов. Цей специфічний клон може слугувати надійною платформою як для фундаментальних, так і для прикладних біомедичних досліджень, роблячи значний внесок у галузі клітинної біології, генетики та онкології.

Organism Людина

Tissue Кость

Disease Остеосаркома

Характеристики

Age 15 років

Gender Жінка

Ethnicity Кавказець

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Клітини U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (номер за каталогом Cytion 300444)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FL
Depositor	Лабораторія Елленберга (EMBL)
GMO Status	ГМО-S1: Ця клітинна лінія остеосаркоми людини (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, клон 33) містить злиття NUP96-SNAP, сконструйоване за допомогою CRISPR, що полегшує хімічне мічення ядерних пор SNAP-мітками. Модифікація стабільно інтегрована. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятись в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Protein expression	NUP96-SNAP (білок комплексу ядерних пор 96, SNAP-тег)
---------------------------	---

Обробка

Culture Medium	McCoy's 5a, w: 3,0 г/л Глюкоза, w: стабільна Глютамін, w: 2,0 мМ Піруват натрію, w: 2,2 г/л NaHCO ₃ (Cytion article number 820200a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS, 3,0 г/л глюкози, стабільний глютамін, 2,0 мМ пірувату натрію, 2,2 г/л NaHCO ₃ , 1% NEAA
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 x 10 ⁴ клітин/см ²
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень

Клітини U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444**Freeze medium**

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

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, зануливши 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. Дотримуйтесь 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

Ні

Клітини U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Freezing Procedure

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.

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.