

Tế bào U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448**Thông tin chung****Description**

Dòng tế bào U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo là một dòng tế bào được biến đổi gen từ các tế bào ung thư xương U-2 OS của người. Dòng tế bào này đã được sửa đổi bằng công nghệ CRISPR-Cas9 để tích hợp một HaloTag tại vị trí gen NUP96. NUP96, một thành phần của phức hợp lỗ hạt nhân, đóng vai trò quan trọng trong vận chuyển hạt nhân và điều hòa tế bào. Việc đưa vào HaloTag cho phép quan sát chính xác và đặc trưng sinh hóa động học và tương tác của NUP96 trong tế bào.

Bằng cách cho phép gắn covalent các chất chỉ thị huỳnh quang hoặc các chất chỉ thị khác, HaloTag cho phép quan sát thời gian thực và cung cấp công cụ mạnh mẽ để nghiên cứu các cơ chế vận chuyển nhân trong tế bào sống. Dòng tế bào cụ thể này, số 252, đã được lựa chọn vì biểu hiện ổn định của NUP96 được gắn HaloTag, đảm bảo hiệu suất nhất quán trong các thiết lập thí nghiệm. Tính năng này khiến nó rất phù hợp cho các kỹ thuật hình ảnh độ phân giải cao và nghiên cứu tương tác phân tử, từ đó hỗ trợ nghiên cứu tiên tiến trong sinh học tế bào, đặc biệt trong bối cảnh chức năng nhân và điều hòa gen.

Organism Con người**Tissue** Xương**Disease** U xương**Đặc điểm****Age** 15 năm**Gender** Nữ**Ethnicity** Người da trắng**Morphology** Tương tự biểu mô**Growth properties** Người tuân thủ**Dữ liệu quy định****Citation** U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo (Số catalog Cytion 300448)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606

Tế bào U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448**CellosaurusAccession** CVCL_B7FI**Depositor** Phòng thí nghiệm Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Dòng tế bào ung thư xương người này (U2OS-CRISPR-NUP96-Halo, dòng 252) chứa một phức hợp NUP96-Halo được chỉnh sửa bằng CRISPR, được tạo ra thông qua việc truyền virus lentivirus, cho phép đánh dấu huỳnh quang các phức hợp lỗ nhân. Sự chỉnh sửa này được tích hợp ổn định. Phân loại này chỉ áp dụng trong phạm vi Đức và có thể khác nhau ở các khu vực khác.**Dữ liệu sinh học phân tử****Protein expression** NUP96-Halo (protein phức hợp lỗ hạt nhân nội sinh 96, có gắn thẻ Halo)**Xử lý****Culture Medium** McCoys 5a, chứa: 3,0 g/L glucose, chứa: glutamine ổn định, chứa: 2,0 mM natri pyruvate, chứa: 2,2 g/L NaHCO₃ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820200a)**Supplements** Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.**Seeding density** 1×10^4 tế bào/cm²**Fluid renewal** 2 đến 3 lần mỗi tuần**Freeze medium** Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

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

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở $300 \times g$ trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Để đạt được độ bám dính và khả năng sống sót tối ưu sau khi rã đông, chúng tôi khuyến nghị sử dụng **các ống nghiệm hoặc đĩa được phủ collagen**.

**Freezing
Procedure**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448**Shipping
Conditions**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

**Storage
Conditions**

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196°C . Việc bảo quản ở -80°C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA**Sterility**

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.

Các alen HLA

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