Product sheet

Tế bào U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Thông tin chung

Description	Dòng tế bào ung thư xương U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP là một dòng tế bào ung thư xương được biến đổi gen, được phát triển từ dòng tế bào người U-2 OS ban đầu. Dòng tế bào này đã được chỉnh sửa gen bằng công nghệ CRISPR/Cas9 để tích hợp một thẻ SNAP vào gen NUP96, cho phép quan sát và nghiên cứu động học của phức hợp lỗ nhân. Phức hợp lỗ nhân (NPC) đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa vận chuyển nhân-chất lỏng, và NUP96 là thành phần quan trọng của NPC, đóng vai trò then chốt trong tính toàn vẹn cấu trúc và chức năng của nó. Trong dòng tế bào U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP clone no.33, việc tích hợp SNAP-tag tại vị trí NUP96 cho phép gắn kết cụ thể và bền vững các chất nền huỳnh quang hoặc các chất chỉ thị hóa học khác, có thể được sử dụng cho quan sát tế bào sống và các thử nghiệm sinh hóa khác. Tính năng này khiến nó trở thành công cụ vô giá để nghiên cứu động học phân tử của vận chuyển nhân-chất lỏng, hiểu rõ các bệnh lý liên quan đến NPC và sàng lọc các hợp chất điều trị ảnh hưởng đến chức năng của NPC. Dòng tế bào này cũng giữ nguyên các đặc tính của dòng tế bào cha U-2 OS, bao gồm độ ổn định di truyền cao và dễ nuôi cấy, khiến nó phù hợp cho sàng lọc quy mô lớn và các nghiên cứu kéo dài trong sinh học tế bào. Do tính đặc hiệu của sự biến đổi tại gen NUP96, dòng tế bào U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP số 33 cung cấp một mô hình độc đáo để nghiên cứu chi tiết các thành phần NPC trong bối cảnh chức năng và rối loạn tế bào. Các nhà nghiên cứu có thể tận dụng hệ thống SNAP-tag để đánh dấu chọn lọc và nhanh chóng NUP96, giúp quan sát động học của NPC trong điều kiện sinh lý và bệnh lý. Clone cụ thể này có thể đóng vai trò như một nền tảng vững chắc cho cả nghiên cứu cơ bản và ứng dụng y sinh, góp phần quan trọng vào các lĩnh vực sinh học tế bào, di truyền học và ung thư học.
Organism	Con người
Tissue	Xương
Disease	U xương

Đặc điểm

Age	15 năm
Gender	Nữ
Ethnicity	Người da trắng
Growth properties	Người tuân thủ

Dữ liệu quy định

Tế bào U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (Số catalog Cytion 300444)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FL
Depositor	Phòng thí nghiệm Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Dòng tế bào ung thư xương người này (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, dòng 33) chứa một sự kết hợp NUP96-SNAP được thiết kế bằng CRISPR, cho phép gắn nhãn hóa học SNAP-tag vào các lỗ nhân. Sự sửa đổi này được tích hợp ổn định. Phân loại này chỉ áp dụng trong phạm vi Đức và có thể khác ở các khu vực khác.

Dữ liệu sinh học phân tử

Protein expression	NUP96-SNAP (protein phức hợp lỗ hạt nhân 96, SNAP-tag)

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 $NaHCO_3$ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820200a)
Supplements	Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 10% huyết thanh bò (FBS), 3,0 g/L glucose, glutamine ổn định, 2,0 mM natri pyruvate, 2,2 g/L $NaHCO_3$, 1% NEAA
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/cm^2
Fluid renewal	2 đến 3 lần mỗi tuần

Tế bào U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

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.

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 x 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**.

Tế bào U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

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.
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.