

## Tế bào U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

## Thông tin chung

## Description

Dòng tế bào U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP là một dòng tế bào biến đổi gen được phát triển từ dòng tế bào ung thư xương người U-2 OS gốc. Dòng tế bào này chứa một đoạn chèn mục tiêu của protein phát quang xanh tăng cường dạng đơn thể (mEGFP) tại vị trí gen NUP96, được thực hiện thông qua công nghệ chỉnh sửa gen CRISPR-Cas9. NUP96, một thành phần của phức hợp lỗ nhân, là yếu tố thiết yếu cho quá trình vận chuyển nhân. Việc kết hợp NUP96 với mEGFP cho phép quan sát động học của phức hợp lỗ nhân theo thời gian thực dưới kính hiển vi huỳnh quang, cung cấp những hiểu biết quý giá về cơ chế vận chuyển nhân và vận chuyển nhân-chất tế bào.

Clone cụ thể này, được đánh số 195, đã được lựa chọn vì biểu hiện ổn định của protein liên hợp NUP96-mEGFP và duy trì các đặc điểm điển hình của dòng tế bào U-2 OS, bao gồm cấu trúc cytoskeleton vững chắc, điều này rất quan trọng trong các nghiên cứu liên quan đến di chuyển và di căn của tế bào ung thư. Ứng dụng công nghệ CRISPR đảm bảo chỉnh sửa gen chính xác, giảm thiểu tác động ngoài mục tiêu có thể ảnh hưởng đến tính toàn vẹn của kết quả thí nghiệm. Điều này khiến dòng tế bào U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP số 195 đặc biệt hữu ích cho các kỹ thuật hình ảnh độ phân giải cao và nghiên cứu cấu trúc tế bào chi tiết, hỗ trợ nghiên cứu tiên tiến trong sinh học tế bào, nghiên cứu ung thư và hiện tượng vận chuyển nhân.

**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-mEGFP dòng clone số 195 (Số catalog Cytion 300174)

**Biosafety level** 1

**Tế bào U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174****NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_B7FJ**Depositor** Phòng thí nghiệm Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Dòng tế bào ung thư xương người này (U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP, dòng 195) chứa một protein NUP96-mEGFP được tạo ra bằng công nghệ CRISPR, được đưa vào thông qua phương pháp chuyển gen bằng virus lentivirus, cho phép theo dõi bằng ánh sáng huỳnh quang các phức hợp lỗ nhân. Sự biến đổi 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** MEGFP (protein phức hợp lỗ hạt nhân 96, được gắn mEGFP)**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<sub>3</sub> (Số hiệu sản phẩm Cytion 820200a)**Supplements** Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 10% huyết thanh bò (FBS) và 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** 2 đến  $3 \times 10^4$  tế bào/cm<sup>2</sup>**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-mEGFP | 300174****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  $-150^{\circ}\text{C}$  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  $37^{\circ}\text{C}$  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**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , môi trường ẩm.

**Flask Coating**

Không có

**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  $-78^{\circ}\text{C}$  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  $-78^{\circ}\text{C}$  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-mEGFP | 300174

### 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.