

## Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

## Обща информация

## Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP е генетично модифицирана клетъчна линия на остеосарком, получена от изходната човешка клетъчна линия U-2 OS. Тази клетъчна линия е създадена чрез CRISPR/Cas9-медирано редактиране на генома, за да се включи SNAP-таг в гена NUP96, което позволява визуализиране и изследване на динамиката на ядрения порен комплекс. Комплексите на ядрените пори (NPC) са от решаващо значение за регулирането на нуклеоцитоплазмения транспорт, а NUP96 е важен компонент на NPC, който играе ключова роля за структурната цялост и функцията му.

В клонинг № 33 на U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP интегрирането на SNAP-таг в локуса на NUP96 позволява специфично и ковалентно прикрепване на флуоресцентни субстрати или други химически сонди, които могат да се използват за изобразяване на живи клетки и други биохимични анализи. Тази характеристика го прави безценен инструмент за изследване на молекулярната динамика на нуклеоцитоплазмения транспорт, за разбиране на патологиите, свързани с NPC, и за скрининг на терапевтични съединения, които влияят на функцията на NPC. Клетъчната линия също така запазва характеристиките на родителската линия U-2 OS, които включват високо ниво на генетична стабилност и лесно култивиране, което я прави подходяща за високопроизводителен скрининг и разширени изследвания в областта на клетъчната биология.

Благодарение на специфичността на модификацията в гена NUP96, U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP клонинг № 33 предоставя уникален модел за подробно изследване на компонентите на NPC в контекста на клетъчната функция и дисфункция. Изследователите могат да използват системата за SNAP-етикетиране за селективно и бързо маркиране на NUP96, което улеснява визуализирането на динамиката на NPC в реално време при физиологични и патологични условия. Този специфичен клонинг може да служи като стабилна платформа както за фундаментални изследвания, така и за приложни биомедицински проучвания, допринасяйки значително за областите на клетъчната биология, генетиката и онкологията.

**Organism** Човек

**Tissue** Bone

**Disease** Остеосарком

## Характеристики

**Age** 15 години

**Gender** Жена

**Ethnicity** Кавказки

**Growth properties** Придържачи се

## Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

## Регулаторни данни

|                             |  |
|-----------------------------|--|
| <b>Citation</b>             | U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (каталожен номер 300444 на Cytion)  |
| <b>Biosafety level</b>      | 1  |
| <b>NCBI_TaxID</b>           | 9606   |
| <b>CellosaurusAccession</b> | CVCL_B7FL  |
| <b>Depositor</b>            | Лабораторията на Елънбърг (EMBL)   |
| <b>GMO Status</b>           | GMO-S1: Тази човешка клетъчна линия на остеосарком (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, клонинг 33) съдържа синтез NUP96-SNAP, създаден по метода CRISPR, който улеснява химическото маркиране на ядрените пори с SNAP-тагове. Модификацията е стабилно интегрирана. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни. |

## Биомолекулярни данни

|                           |  |
|---------------------------|--|
| <b>Protein expression</b> | NUP96-SNAP (протеин 96 от комплекса на ядрената пора, SNAP-етикет) |
|---------------------------|--|

## Работа с

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| <b>Culture Medium</b>       | McCoys 5a, w: 3,0 g/L глюкоза, w: стабилен глутамин, w: 2,0 mM натриев пируват, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (номер на статията в Cytion 820200a)  |
| <b>Supplements</b>          | Допълнете средата с 10% FBS, 3,0 g/L глюкоза, стабилен глутамин, 2,0 mM натриев пируват, 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , 1% NEAA   |
| <b>Dissociation Reagent</b> | Accutase  |
| <b>Subculturing</b>         | Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда. |
| <b>Seeding density</b>      | 1 x 10 <sup>4</sup> клетки/cm <sup>2</sup>  |

**Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444****Fluid renewal** 2 до 3 пъти седмично**Freeze medium**

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation Atmosphere**37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.**Flask Coating**

Няма

## Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

### Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

### Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

### Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около  $-150$  до  $-196^{\circ}\text{C}$ . Съхранението при  $-80^{\circ}\text{C}$  е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

## Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

### Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.