

## U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple-celler | 300461

## Generel information

## Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple er en genetisk konstrueret osteosarkomcellelinje, der stammer fra den humane U-2 OS-cellelinje, som er kendt for sine robuste vækstegenskaber og anvendelighed i forskellige biologiske undersøgelser. Denne særlige klon er blevet modificeret ved hjælp af CRISPR/Cas9-genredigeringsteknologi for at inkorporere mMaple, et fotokonvertibelt fluorescerende protein, i NUP96-genet. mMaple-proteinet giver mulighed for avancerede billeddannelsesteknikker som levende cellebilleder og superopløsningsmikroskopi, hvilket giver dynamisk indsigt i kerneporekompleksets (NPC) opførsel og cellulære import-eksportmekanismer gennem kernehylsteret.

NUP96-genet, som koder for en vigtig komponent i NPC, er afgørende for nukleocytoplasmatiske transport. Ændringer i NUP96 kan ikke kun påvirke transportmekanismerne, men også den overordnede nukleare arkitektur og funktion. Denne cellelinje fungerer således som en fremragende model til at studere NPC-relaterede patologier og den rolle, som nuklear transport spiller i cellulær metabolisme og signalering. Integrationen af mMaple i NUP96 tillader realtidssporing og visualisering af NUP96-dynamik in vivo, hvilket gør det til et uundværligt værktøj for forskere med fokus på studier af cellekerner og dem, der undersøger konsekvenserne af NPC-dysfunktioner i sygdomme som kræft og virusinfektioner.

Som et specialiseret værktøj understøtter U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple klon nr. 16 billeddannelse i høj opløsning og giver betydelige data om den rumlige og tidsmæssige fordeling af NPC-komponenter. Det er især værdifuldt til eksperimenter, der kræver detaljeret analyse af genekspression, proteinlokalisering og nuklear transport under fysiologiske og patologiske forhold, hvilket letter en dybere forståelse af cellulære processer på molekylært niveau.

**Organism** Menneske

**Tissue** Knogle

**Disease** Osteosarkom

## Karakteristika

**Age** 15 år

**Gender** Kvinde

**Ethnicity** Kaukasisk

**Growth properties** Vedhæftende

## Regulatoriske data

## U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple-celler | 300461

<b>Citation</b>	U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (Cytion katalognummer 300461)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_B7FK
<b>Depositor</b>	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Denne humane osteosarkomcellelinje (U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple, klon 16) indeholder en CRISPR-medieret NUP96-mMaple-fusion, der muliggør fotokonvertibel mærkning af nukleare porestrukturer. Konstruktionen er stabilt til stede. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

## Biomolekylære data

<b>Protein expression</b>	NUP96-mMaple (endogent kerneporekompleks-protein 96, mMaple-mærket)
---------------------------	---

## Håndtering

<b>Culture Medium</b>	McCoy's 5a, w: 3,0 g/L Glukose, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion artikelnummer 820200a)
<b>Supplements</b>	Suppler mediet med 10% FBS, 1% NEAA
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løse dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ celler/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 til 3 gange om ugen

**U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple-celler | 300461****Freeze medium**

Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

**Incubation Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befugtet atmosfære.

**Flask Coating**

Ingen

**Freezing Procedure**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

## U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple-celler | 300461

### Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

### Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

## Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturene daglige visuelle inspektioner.