

## U2OS-CRISPR-NUP96-Halo-Zellen | 300448

## Allgemeine Informationen

## Description

Die U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo ist eine gentechnisch veränderte Zelllinie, die von den menschlichen Osteosarkom-Zellen U-2 OS abgeleitet ist. Diese Zelllinie wurde mit Hilfe der CRISPR-Cas9-Technologie so verändert, dass ein HaloTag in den NUP96-Genlocus eingebaut wurde. NUP96 ist Teil des Kernporenkomplexes und spielt eine entscheidende Rolle beim Kerntransport und der Zellregulation. Die Einführung des HaloTag ermöglicht die präzise Visualisierung und biochemische Charakterisierung der Dynamik und der Interaktionen von NUP96 innerhalb der Zelle.

Da der HaloTag die kovalente Anbringung von fluoreszierenden Liganden oder anderen Sonden erleichtert, ermöglicht er die Bildgebung in Echtzeit und stellt ein leistungsfähiges Instrument zur Untersuchung der Kerntransportmechanismen in lebenden Zellen dar. Dieser spezielle Klon mit der Nummer 252 wurde aufgrund seiner stabilen Expression des HaloTagged NUP96 ausgewählt, was eine gleichbleibende Leistung in Versuchsaufbauten gewährleistet. Dadurch eignet er sich hervorragend für hochauflösende Bildgebungsverfahren und molekulare Interaktionsstudien und unterstützt so die fortgeschrittene Forschung in der Zellbiologie, insbesondere im Zusammenhang mit der Kernfunktion und der genetischen Regulation.

**Organism** Menschen

**Tissue** Knochen

**Disease** Osteosarkom

## Merkmale

**Age** 15 Jahre

**Gender** Weiblich

**Ethnicity** Kaukasisch

**Morphology** Epithelähnlich

**Growth properties** Adhärent

## Regulatorische Daten

**Citation** U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo (Cytion-Katalognummer 300448)

**Biosafety level** 1

## U2OS-CRISPR-NUP96-Halo-Zellen | 300448

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_B7FI

**Depositor** Das Ellenberg-Labor (EMBL)

**GMO Status** GMO-S1: Diese humane Osteosarkom-Zelllinie (U2OS-CRISPR-NUP96-Halo, Klon 252) enthält eine CRISPR-editierte NUP96-Halo-Fusion, die durch lentivirale Verabreichung erzeugt wurde und die Fluoreszenzmarkierung von Kernporenkomplexen ermöglicht. Die Modifikation ist stabil integriert. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

### Biomolekulare Daten

**Protein expression** NUP96-Halo (endogenes Kernporenkomplex-Protein 96, Halo-markiert)

### Handhabung

**Culture Medium** McCoy's 5a, w: 3,0 g/L Glucose, w: stabiles Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion-Artikelnummer 820200a)

**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

**Split ratio** Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3 bis 1:4

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  Zellen/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 bis 3 Mal pro Woche

## U2OS-CRISPR-NUP96-Halo-Zellen | 300448

### Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

### Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein  $37^{\circ}\text{C}$  warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei  $300 \times g$ , um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenen Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befeuchtete Atmosphäre.

### Flask Coating

Keine

### Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

## U2OS-CRISPR-NUP96-Halo-Zellen | 300448

### Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

### Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

## Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

### Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

### STR-Profil

**CSF1PO:** 13,14  
**D13S317:** 13,13  
**D16S539:** 9,11  
**D5S818:** 11,12  
**D7S820:** 11,12  
**TH01:** 9,3,9,3  
**TPOX:** 11,12  
**vWA:** 14,18  
**D3S1358:** 16,16  
**D21S11:** 31,32  
**D18S51:** 12,14  
**Penta E:** 10,13  
**Penta D:** 9,9  
**D8S1179:** 12,14  
**FGA:** 20,20

### HLA-Allele

**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