

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP-Zellen | 300444

Allgemeine Informationen

Description

Die U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP ist eine genetisch veränderte Osteosarkom-Zelllinie, die von der humanen Stammzelllinie U-2 OS abgeleitet ist. Diese Zelllinie wurde durch CRISPR/Cas9-vermittelte Genom-Editierung so verändert, dass sie einen SNAP-Tag am NUP96-Gen enthält, was die Visualisierung und Untersuchung der Dynamik des Kernporenkomplexes ermöglicht. Kernporenkomplexe (NPC) sind für die Regulierung des nukleozytoplasmatischen Transports von entscheidender Bedeutung, und NUP96 ist ein wichtiger Bestandteil des NPC und spielt eine zentrale Rolle für dessen strukturelle Integrität und Funktion.

Der U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP-Klon Nr. 33 ermöglicht durch die Integration des SNAP-Tags am NUP96-Lokus die spezifische und kovalente Bindung von fluoreszierenden Substraten oder anderen chemischen Sonden, die für die Bildgebung in lebenden Zellen und andere biochemische Tests verwendet werden können. Diese Eigenschaft macht sie zu einem unschätzbaren Werkzeug für die Untersuchung der molekularen Dynamik des nukleozytoplasmatischen Transports, das Verständnis von NPC-bezogenen Pathologien und das Screening nach therapeutischen Wirkstoffen, die die NPC-Funktion beeinflussen. Die Zelllinie behält auch die Eigenschaften der elterlichen U-2 OS-Linie bei, darunter ein hohes Maß an genetischer Stabilität und eine einfache Kultivierung, wodurch sie sich für Hochdurchsatz-Screening und erweiterte zellbiologische Studien eignet.

Aufgrund der Spezifität der Modifikation am NUP96-Gen ist der U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP-Klon Nr. 33 ein einzigartiges Modell für die detaillierte Untersuchung von NPC-Komponenten im Zusammenhang mit zellulären Funktionen und Dysfunktionen. Forscher können das SNAP-Tag-System nutzen, um NUP96 selektiv und schnell zu markieren, was die Echtzeit-Visualisierung der NPC-Dynamik unter physiologischen und pathologischen Bedingungen ermöglicht. Dieser spezifische Klon kann als robuste Plattform sowohl für die Grundlagenforschung als auch für angewandte biomedizinische Studien dienen und einen wichtigen Beitrag zu den Bereichen Zellbiologie, Genetik und Onkologie leisten.

Organism Menschen

Tissue Knochen

Disease Osteosarkom

Merkmale

Age 15 Jahre

Gender Weiblich

Ethnicity Kaukasisch

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP-Zellen | 300444

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (Cytion-Katalognummer 300444)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FL
Depositor	Das Ellenberg-Labor (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Diese menschliche Osteosarkom-Zelllinie (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, Klon 33) enthält eine CRISPR-veränderte NUP96-SNAP-Fusion, die die chemische Markierung von Kernporen mit SNAP-Tags erleichtert. Die Modifikation ist stabil integriert. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Protein expression	NUP96-SNAP (Kernporenkomplex-Protein 96, SNAP-Tag)
---------------------------	--

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 ₃ (Cytion-Artikelnummer 820200a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS, 3,0 g/L Glucose, stabilem Glutamin, 2,0 mM Natriumpyruvat, 2,2 g/L NaHCO ₃ , 1% NEAA
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	Es wird ein Verhältnis von 1:4 bis 1:6 empfohlen
Seeding density	1×10^4 Zellen/cm ²

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP-Zellen | 300444

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

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°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 adhären 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°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating Keine

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP-Zellen | 300444

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 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

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

Amelogenin: x,y