

**U2OS-CRISPR-NUP96-Halo Sel | 300448****Informasi umum****Description**

U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo adalah garis sel yang direkayasa secara genetik yang berasal dari sel osteosarkoma U-2 OS manusia. Garis sel ini telah dimodifikasi menggunakan teknologi CRISPR-Cas9 untuk memasukkan HaloTag pada lokus gen NUP96. NUP96, bagian dari kompleks pori nuklir, memainkan peran penting dalam transportasi nuklir dan regulasi seluler. Pengenalan HaloTag memungkinkan visualisasi yang tepat dan karakterisasi biokimiawi dari dinamika dan interaksi NUP96 di dalam sel.

Dengan memfasilitasi perlekatan kovalen ligan fluoresen atau probe lainnya, HaloTag memungkinkan pencitraan waktu nyata dan menyediakan alat yang ampuh untuk mempelajari mekanisme transpor nuklir dalam sel hidup. Klon khusus ini, nomor 252, telah dipilih karena ekspresi stabil dari HaloTagged NUP96, memastikan kinerja yang konsisten dalam pengaturan eksperimental. Fitur ini membuatnya sangat cocok untuk teknik pencitraan resolusi tinggi dan studi interaksi molekuler, sehingga mendukung penelitian lanjutan dalam biologi seluler, khususnya dalam konteks fungsi nuklir dan regulasi genetik.

**Organism**

Manusia

**Tissue**

Tulang

**Disease**

Osteosarkoma

**Karakteristik****Age**

15 tahun

**Gender**

Perempuan

**Ethnicity**

Kaukasia

**Morphology**

Seperti epitel

**Growth properties**

Patuh

**Data Peraturan****Citation**

U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo (nomor katalog Cytion 300448)

**Biosafety level**

1

**NCBI\_TaxID**

9606

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

**CellosaurusAccession** CVCL\_B7FI**Depositor** Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)

**GMO Status** GMO-S1: Garis sel osteosarkoma manusia ini (U2OS-CRISPR-NUP96-Halo, klon 252) mengandung fusi NUP96-Halo yang disunting oleh CRISPR yang dihasilkan melalui pengiriman lentiviral, yang memungkinkan pelabelan neon kompleks pori nuklir. Modifikasi ini terintegrasi secara stabil. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.

## Data Biomolekuler

**Protein expression** NUP96-Halo (protein kompleks pori nuklir endogen 96, ditandai dengan Halo)

## Penanganan

**Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glukosa, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natrium piruvat, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Nomor artikel Cytion 820200a)

**Supplements** Tambahkan media dengan 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.

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

**Fluid renewal** 2 hingga 3 kali per minggu

**Freeze medium** Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

**U2OS-CRISPR-NUP96-Halo Sel | 300448****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada 300 x g selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

**Incubation  
Atmosphere**

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfer yang dilembapkan.

**Flask Coating**

Tidak ada

**Freezing  
Procedure**

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

**Shipping  
Conditions**

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

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

### Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

## Pengendalian Mutu & Analisis Molekuler

### Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.

### Alel HLA

**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