

**Sel U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444**

**Informasi umum**

**Description**

U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP adalah garis sel osteosarkoma yang dimodifikasi secara genetik yang berasal dari garis sel manusia U-2 OS. Garis sel ini telah direkayasa melalui pengeditan genom yang dimediasi CRISPR / Cas9 untuk memasukkan tag SNAP pada gen NUP96, yang memungkinkan visualisasi dan studi dinamika kompleks pori nuklir. Kompleks pori nuklir (NPC) sangat penting untuk pengaturan transpor nukleositoplasma, dan NUP96 adalah komponen penting dari NPC, yang memainkan peran penting dalam integritas dan fungsi struktural.

Dalam klon U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP no.33, integrasi tag SNAP pada lokus NUP96 memungkinkan pelekatan spesifik dan kovalen dari substrat fluoresen atau probe kimiawi lainnya yang dapat digunakan untuk pencitraan sel hidup dan uji biokimia lainnya. Fitur ini menjadikannya alat yang sangat berharga untuk menyelidiki dinamika molekuler transpor nukleositoplasma, memahami patologi terkait NPC, dan menyaring senyawa terapeutik yang memengaruhi fungsi NPC. Garis sel juga mempertahankan karakteristik garis OS U-2 parental, yang mencakup tingkat stabilitas genetik yang tinggi dan kemudahan kultur, sehingga cocok untuk skrining throughput tinggi dan studi yang diperluas dalam biologi sel.

Karena kekhususan modifikasi pada gen NUP96, klon U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP no. 33 menyediakan model unik untuk studi terperinci tentang komponen NPC dalam konteks fungsi dan disfungsi seluler. Para peneliti dapat mengeksploitasi sistem SNAP-tag untuk memberi label NUP96 secara selektif dan cepat, memfasilitasi visualisasi dinamika NPC secara real-time dalam kondisi fisiologis dan patologis. Klon spesifik ini dapat berfungsi sebagai platform yang kuat untuk penelitian dasar dan studi biomedis terapan, yang berkontribusi secara signifikan pada bidang biologi seluler, genetika, dan onkologi.

**Organism** Manusia

**Tissue** Tulang

**Disease** Osteosarkoma

**Karakteristik**

**Age** 15 tahun

**Gender** Perempuan

**Ethnicity** Kaukasia

**Growth properties** Patuh

**Data Peraturan**

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

<b>Citation</b>	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (nomor katalog Cytion 300444)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_B7FL
<b>Depositor</b>	Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Garis sel osteosarkoma manusia ini (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, klon 33) mengandung fusi NUP96-SNAP hasil rekayasa CRISPR yang memfasilitasi pelabelan kimia tag SNAP pada pori-pori nuklir. Modifikasi ini terintegrasi secara stabil. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.

## Data Biomolekuler

<b>Protein expression</b>	NUP96-SNAP (protein kompleks pori nuklir 96, tag SNAP)
---------------------------	--

## Penanganan

<b>Culture Medium</b>	McCoy's 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)
<b>Supplements</b>	Lengkapi media dengan 10% FBS, 3,0 g/L Glukosa, Glutamin stabil, 2,0 mM Natrium piruvat, 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , 1% NEAA
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	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.
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ sel/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 hingga 3 kali per minggu

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

### 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.

### 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  $-150^{\circ}\text{C}$  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  $37^{\circ}\text{C}$  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  $300 \times g$  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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfer yang dilembabkan.

### 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  $-78^{\circ}\text{C}$  selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

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

### Shipping Conditions

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

### Storage Conditions

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

## Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

### 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.