

**Sel U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174****Informasi umum****Description**

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP adalah garis sel yang dimodifikasi secara genetik yang berasal dari garis induk osteosarkoma U-2 OS manusia. Garis sel ini menggabungkan penyisipan yang ditargetkan dari tag monomer Enhanced Green Fluorescent Protein (mEGFP) pada lokus gen NUP96, yang dicapai melalui teknologi penyuntingan gen CRISPR-Cas9. NUP96, bagian dari kompleks pori nuklir, sangat penting untuk transportasi nuklir, dan penggabungannya dengan mEGFP memungkinkan visualisasi waktu nyata dinamika pori nuklir di bawah mikroskop fluoresen, memberikan wawasan yang berharga ke dalam mekanisme transportasi nuklir dan perdagangan nukleositoplasma.

Klon spesifik ini, bernomor 195, telah dipilih karena ekspresi protein fusi NUP96-mEGFP yang stabil dan mempertahankan karakteristik khas garis keturunan U-2 OS, termasuk struktur sitoskeletal yang kuat yang sangat penting dalam penelitian yang berkaitan dengan migrasi dan metastasis sel kanker. Penerapan teknologi CRISPR memastikan pengeditan gen yang tepat, meminimalkan efek tidak tepat sasaran yang dapat membahayakan integritas hasil eksperimen. Hal ini membuat klon U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP no.195 sangat berguna untuk teknik pencitraan resolusi tinggi dan studi arsitektur seluler yang terperinci, membantu penelitian lanjutan dalam biologi seluler, penelitian kanker, dan fenomena transportasi nuklir.

**Organism** Manusia**Tissue** Tulang**Disease** Osteosarkoma**Karakteristik****Age** 15 tahun**Gender** Perempuan**Ethnicity** Kaukasia**Morphology** Seperti epitel**Growth properties** Patuh**Data Peraturan****Citation** Klon U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP nomor 195 (Nomor katalog Cytion 300174)**Biosafety level** 1

## Sel U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_B7FJ
<b>Depositor</b>	Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Garis sel osteosarkoma manusia ini (U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP, klon 195) mengandung fusi NUP96-mEGFP hasil rekayasa CRISPR yang diperkenalkan melalui pengiriman lentiviral, yang memungkinkan pelacakan neon kompleks 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>	MEGFP (protein kompleks pori nuklir 96, bertanda mEGFP)
---------------------------	---

## 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, 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>	2 hingga $3 \times 10^4$ sel/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 hingga 3 kali per minggu
<b>Freeze medium</b>	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.

## Sel U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

### 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 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

$37^{\circ}\text{C}$ , 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  $-78^{\circ}\text{C}$  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  $-78^{\circ}\text{C}$  selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

**Sel U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174**

**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.

**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.