

## U2OS-CRISPR-NUP96-maple cellen | 300461

## Algemene informatie

## Description

De U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple is een genetisch gemanipuleerde osteosarcoom cellijn afgeleid van de menselijke U-2 OS cellijn, bekend om zijn robuuste groeikenmerken en bruikbaarheid in verschillende biologische studies. Deze specifieke kloon is gewijzigd met behulp van CRISPR/Cas9-genbewerkingstechnologie om mMaple, een fotoconverteerbaar fluorescerend eiwit, in het NUP96-gen op te nemen. Het mMaple-eiwit maakt geavanceerde beeldvormingstechnieken mogelijk, zoals live-cell imaging en superresolutiemicroscopie, en biedt dynamisch inzicht in het gedrag van het nucleaire poriëncomplex (NPC) en cellulaire import-exportmechanismen door de nucleaire envelop.

Het NUP96-gen, dat codeert voor een cruciaal onderdeel van het NPC, is essentieel voor nucleocytoplasmatisch transport. Verandering van NUP96 kan niet alleen de transportmechanismen beïnvloeden, maar ook de algehele nucleaire architectuur en functie. Deze cellijn dient dus als een uitstekend model voor het bestuderen van NPC-gerelateerde pathologieën en de rol van nucleair transport in cellulair metabolisme en signalering. De integratie van mMaple in NUP96 maakt real-time volgen en visualisatie van NUP96 dynamiek in vivo mogelijk, waardoor het een onmisbaar instrument wordt voor onderzoekers die zich richten op celkernstudies en onderzoekers die de implicaties van NPC disfuncties in ziekten zoals kanker en virale infecties onderzoeken.

Als gespecialiseerd instrument ondersteunt U-2 OS-CRISPR-NUP96-maple kloon nr. 16 beeldvorming met hoge resolutie en levert het substantiële gegevens over de ruimtelijke en temporele distributie van NPC-componenten. Het is bijzonder waardevol voor experimenten die een gedetailleerde analyse van genexpressie, eiwitlokalisatie en nucleair transport onder fysiologische en pathologische omstandigheden vereisen, waardoor een beter begrip van cellulaire processen op moleculair niveau mogelijk wordt.

<b>Organism</b>	Mens
<b>Tissue</b>	Bot
<b>Disease</b>	Osteosarcoom

## Kenmerken

<b>Age</b>	15 jaar
<b>Gender</b>	Vrouw
<b>Ethnicity</b>	Kaukasisch
<b>Growth properties</b>	Aanhangend

## Regelgevende gegevens

## U2OS-CRISPR-NUP96-maple cellen | 300461

<b>Citation</b>	U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (Cytion catalogusnummer 300461)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_B7FK
<b>Depositor</b>	Het Ellenberg Lab (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Deze menselijke osteosarcoomcellijn (U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple, kloon 16) bevat een CRISPR-gemedieerde NUP96-mMaple-fusie die fotoconverteerbare labeling van nucleaire poriestructuren mogelijk maakt. Het construct is stabiel aanwezig. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders afwijken.

## Biomoleculaire gegevens

<b>Protein expression</b>	NUP96-mMaple (endogeen eiwit van het nucleaire poriëncomplex 96, gemerkt met mMaple)
---------------------------	--

## Omgaan met

<b>Culture Medium</b>	McCoy's 5a, w: 3,0 g/L Glucose, w: stabiel Glutamine, w: 2,0 mM Natriumpyruvaat, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion artikelnummer 820200a)
<b>Supplements</b>	Vul het medium aan met 10% FBS, 1% NEAA
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
<b>Split ratio</b>	Een verhouding van 1:3 tot 1:6 wordt aanbevolen
<b>Seeding density</b>	1 x 10 <sup>4</sup> cellen/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 tot 3 keer per week

**U2OS-CRISPR-NUP96-maple cellen | 300461****Freeze medium**

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij  $300 \times g$  om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

**Incubation Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , bevochtigde atmosfeer.

**Flask Coating**

Geen

**Freezing Procedure**

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

## U2OS-CRISPR-NUP96-maple cellen | 300461

### Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

### Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

## Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

### Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.