Product sheet

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP-cellen | 300444

Algemene informatie

Description	De U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP is een genetisch gemodificeerde osteosarcoom cellijn afgeleid van de ouder U-2 OS menselijke cellijn. Deze cellijn is gemodificeerd door CRISPR/Cas9-gemedieerde genoombewerking om een SNAP-tag op te nemen in het NUP96-gen, waardoor de dynamica van het nucleaire poriecomplex kan worden gevisualiseerd en bestudeerd. Nucleaire poriecomplexen (NPC's) zijn cruciaal voor de regulatie van nucleocytoplasmatisch transport, en NUP96 is een belangrijk onderdeel van het NPC en speelt een centrale rol in de structurele integriteit en functie ervan. In U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP kloon nr. 33 zorgt de integratie van de SNAP-tag in de NUP96 locus voor een specifieke en covalente hechting van fluorescerende substraten of andere chemische probes die gebruikt kunnen worden voor live-cell imaging en andere biochemische analyses. Deze eigenschap maakt het een hulpmiddel van onschatbare waarde voor het onderzoeken van de moleculaire dynamica van nucleocytoplasmatisch transport, het begrijpen van NPC-gerelateerde pathologieën en het screenen op therapeutische verbindingen die de NPC-functie beïnvloeden. De cellijn behoudt ook de eigenschappen van de ouderlijke U-2 OS lijn, waaronder een hoge mate van genetische stabiliteit en kweekgemak, waardoor het geschikt is voor high-throughput screening en uitgebreide studies in de celbiologie. Door de specificiteit van de modificatie op het NUP96-gen biedt U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP kloon nr. 33 een uniek model voor de gedetailleerde studie van NPC-componenten in de context van cellulaire functie en disfunctie. Onderzoekers kunnen het SNAP-tag systeem gebruiken om NUP96 selectief en snel te labelen, waardoor real-time visualisatie van NPC dynamica onder fysiologische en pathologische omstandigheden mogelijk wordt. Deze specifieke kloon kan dienen als een robuust platform voor zowel fundamenteel onderzoek als toegepaste biomedische studies en levert een belangrijke bijdrage aan de celbiologie, genetica en oncologie.
Organism	Mens
Tissue	Bot
Disease	Osteosarcoom

Kenmerken

Age	15 jaar
Gender	Vrouw
Ethnicity	Kaukasisch
Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP-cellen | 300444

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (Cytion catalogusnummer 300444)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FL
Depositor	Het Ellenberg Lab (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Deze menselijke osteosarcoomcellijn (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, kloon 33) bevat een CRISPR-ingebouwde NUP96-SNAP fusie die chemische SNAP-tag labeling van nucleaire poriën mogelijk maakt. De modificatie is stabiel geïntegreerd. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Protein expression	NUP96-SNAP (eiwit 96 van het nucleaire poriëncomplex, SNAP-tag)

Omgaan met

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glucose, w: stabiel Glutamine, w: 2,0 mM Natriumpyruvaat, w: 2,2 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820200a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS, 3,0 g/L Glucose, stabiele Glutamine, 2,0 mM Natriumpyruvaat, 2,2 g/L NaHCO3, 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	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 resuspenderen 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.
Split ratio	Een verhouding van 1:4 tot 1:6 wordt aanbevolen
Seeding density	1×10^4 cellen/cm^2

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP-cellen | 300444

Fluid renewal	2 tot 3 keer per week
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (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 °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 °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 x 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°C, 5%$_{CO2}$, bevochtigde atmosfeer.
Flask Coating	Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP-cellen | 300444

Freezing Procedure	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.
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	Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden. Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.
STR profiel	**Amelogenin**: x,y