Product sheet

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP-celler | 300444

Generell informasjon

Description	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP er en genmodifisert osteosarkomcellelinje som er avledet fra den humane cellelinjen U-2 OS. Denne cellelinjen har blitt konstruert gjennom CRISPR/Cas9-mediert genomredigering for å inkorporere en SNAP-tag ved NUP96-genet, noe som gjør det mulig å visualisere og studere dynamikken i kjerneporkomplekset. Kjerneporkomplekser (NPC) er avgjørende for reguleringen av nukleocytoplasmatisk transport, og NUP96 er en viktig komponent i NPC, og spiller en sentral rolle i dets strukturelle integritet og funksjon. I U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP-klon nr. 33 gjør integrasjonen av SNAP-taggen i NUP96-lokuset det mulig å feste fluorescerende substrater eller andre kjemiske prober som kan brukes til avbildning av levende celler og andre biokjemiske analyser, på en spesifikk og kovalent måte. Denne egenskapen gjør den til et uvurderlig verktøy for å undersøke den molekylære dynamikken i nukleocytoplasmatisk transport, forstå NPC-relaterte patologier og screene for terapeutiske forbindelser som påvirker NPC-funksjonen. Cellelinjen beholder også egenskapene til foreldrelinjen U-2 OS, som inkluderer en høy grad av genetisk stabilitet og enkel dyrking, noe som gjør den egnet for screening med høy gjennomstrømning og utvidede studier innen cellebiologi. På grunn av spesifisiteten til modifikasjonen i NUP96-genet er U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP-klon nr. 33 en unik modell for detaljerte studier av NPC-komponenter i forbindelse med cellefunksjon og -dysfunksjon. Forskere kan utnytte SNAP-tag-systemet til å merke NUP96 selektivt og raskt, noe som muliggjør sanntidsvisualisering av NPC-dynamikken under fysiologiske og patologiske forhold. Denne spesifikke klonen kan fungere som en robust plattform for både grunnforskning og anvendte biomedisinske studier, og kan bidra betydelig til fagområdene cellebiologi, genetikk og onkologi.
Organism	Menneskelig
Tissue	Bein
Disease	Osteosarkom

Kjennetegn

Age	15 år
Gender	Kvinne
Ethnicity	Kaukasisk
Growth properties	Vedhengende

Regulatoriske data

Product sheet

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP-celler | 300444

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (Cytion-katalognummer 300444)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FL
Depositor	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Denne humane osteosarkomcellelinjen (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, klone 33) inneholder en CRISPR-konstruert NUP96-SNAP-fusjon som muliggjør kjemisk merking av kjerneporer med SNAP-tag. Modifikasjonen er stabilt integrert. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Protein expression	NUP96-SNAP (kjernepore-kompleks protein 96, SNAP-tag)

Håndtering

Culture Medium	McCoys 5a, m: 3,0 g/L glukose, m: stabil glutamin, m: 2,0 mM natriumpyruvat, m: 2,2 g/L NaHCO3 (Cytion artikkelnummer 820200a)
Supplements	Suppler med 10 % FBS, 3,0 g/L glukose, stabil glutamin, 2,0 mM natriumpyruvat, 2,2 g/L NaHCO3, 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:4 til 1:6 anbefales
Seeding density	1 x 10^4 celler/cm^2
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP-celler | 300444

Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.
Thawing and Culturing Cells	1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport. 2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig. 3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen. 4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den. 5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig. 6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig. 7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst. 8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, befuktet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP-celler | 300444

Shipping Conditions	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Storage Conditions	For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility	Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma. For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.
STR-profil	**Amelogenin**: x,y