

## U2OS-CRISPR-NUP96-Halo-celler | 300448

## Allmän information

## Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo är en genetiskt modifierad cellinje som härrör från de humana osteosarkomcellerna U-2 OS. Denna cellinje har modifierats med hjälp av CRISPR-Cas9-teknik för att införliva en HaloTag vid NUP96-genens lokus. NUP96, som är en del av kärnporskomplexet, spelar en avgörande roll för kärntransport och cellulär reglering. Införandet av HaloTag möjliggör en exakt visualisering och biokemisk karakterisering av NUP96:s dynamik och interaktioner i cellen.

Genom att underlätta kovalent fastsättning av fluorescerande ligander eller andra prober möjliggör HaloTag avbildning i realtid och utgör ett kraftfullt verktyg för att studera mekanismerna för kärntransport i levande celler. Denna speciella klon, nummer 252, har valts ut för sitt stabila uttryck av den HaloTaggade NUP96, vilket säkerställer konsekvent prestanda i experimentella uppställningar. Denna egenskap gör den mycket lämplig för högupplösta avbildningstekniker och molekylära interaktionsstudier, vilket stöder avancerad forskning inom cellbiologi, särskilt i samband med kärnfunktion och genetisk reglering.

**Organism** Människan

**Tissue** Ben

**Disease** Osteosarkom

## Egenskaper

**Age** 15 år

**Gender** Kvinna

**Ethnicity** Kaukasisk

**Morphology** Epitelliknande

**Growth properties** Följsam

## Lagstadgade uppgifter

**Citation** U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo (Cytion katalognummer 300448)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

## U2OS-CRISPR-NUP96-Halo-celler | 300448

**CellosaurusAccession** CVCL\_B7FI**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Denna mänskliga osteosarkomcellinje (U2OS-CRISPR-NUP96-Halo, klon 252) innehåller en CRISPR-redigerad NUP96-Halo-fusion som genererats via lentiviral leverans, vilket möjliggör fluorescerande märkning av kärnporskomplex. Modifieringen är stabilt integrerad. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.**Biomolekylära data****Protein expression** NUP96-Halo (endogent kärnporskomplexprotein 96, Halo-taggat)**Hantering****Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glukos, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikelnummer 820200a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.**Split ratio** Ett förhållande på 1:3 till 1:4 rekommenderas**Seeding density**  $1 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka**Freeze medium** Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

## U2OS-CRISPR-NUP96-Halo-celler | 300448

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid  $300 \times g$  i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befuktad atmosfär.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

### Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

**U2OS-CRISPR-NUP96-Halo-celler | 300448****Storage  
Conditions**

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

**Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA****Sterility**

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

**STR-profil**

**CSF1PO:** 13,14

**D13S317:** 13,13

**D16S539:** 9,11

**D5S818:** 11,12

**D7S820:** 11,12

**TH01:** 9,3,9,3

**TPOX:** 11,12

**vWA:** 14,18

**D3S1358:** 16,16

**D21S11:** 31,32

**D18S51:** 12,14

**Penta E:** 10,13

**Penta D:** 9,9

**D8S1179:** 12,14

**FGA:** 20,20

**HLA-alleler**

**A\*:** '02:01:01, '32:01:01

**B\*:** '44:02:01, '44:27:01

**C\*:** '05:01:01, '07:04:01

**DRB1\*:** '09:01:02G, '14:54:01

**DQA1\*:** '01:04:01, '03:02:01

**DQB1\*:** '03:03:02, '05:03:01

**DPB1\*:** '02:01:02, '04:01:01

**E:** '01:01:01