Product sheet

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP-celler | 300444

Allmän information

Description	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP är en genetiskt modifierad osteosarkomcellinje som härrör från den mänskliga cellinjen U-2 OS. Denna cellinje har modifierats genom CRISPR/Cas9-medierad genomredigering för att införliva en SNAP-tagg vid NUP96-genen, vilket möjliggör visualisering och studier av kärnporskomplexets dynamik. Kärnporkomplex (NPC) är avgörande för regleringen av nukleocytoplasmatisk transport, och NUP96 är en betydande komponent i NPC och spelar en central roll för dess strukturella integritet och funktion. I U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP clone no.33 möjliggör integrationen av SNAP-taggen vid NUP96-locus specifik och kovalent fastsättning av fluorescerande substrat eller andra kemiska prober som kan användas för avbildning av levande celler och andra biokemiska analyser. Denna egenskap gör den till ett ovärderligt verktyg för att undersöka den molekylära dynamiken i nukleocytoplasmatisk transport, förstå NPC-relaterade patologier och screena för terapeutiska föreningar som påverkar NPC-funktionen. Cellinjen behåller också egenskaperna hos föräldracellinjen U-2 OS, vilket inkluderar en hög grad av genetisk stabilitet och enkel odling, vilket gör den lämplig för screening med hög genomströmning och utökade studier inom cellbiologi. På grund av specificiteten hos modifieringen vid NUP96-genen ger U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP-klon nr 33 en unik modell för detaljerad studie av NPC-komponenter i samband med cellulär funktion och dysfunktion. Forskare kan utnyttja SNAP-tag-systemet för att selektivt och snabbt märka NUP96, vilket underlättar visualisering i realtid av NPC-dynamik under fysiologiska och patologiska förhållanden. Denna specifika klon kan fungera som en robust plattform för både grundforskning och tillämpade biomedicinska studier och bidra väsentligt till områdena cellbiologi, genetik och onkologi.
Organism	Människan
Tissue	Ben
Disease	Osteosarkom

Egenskaper

Age	15 år
Gender	Kvinna
Ethnicity	Kaukasisk
Growth properties	Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (Cytion katalognummer 300444)

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP-celler | 300444

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FL
Depositor	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Denna mänskliga osteosarkomcellinje (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, klon 33) innehåller en CRISPR-konstruerad NUP96-SNAP-fusion som underlättar kemisk märkning av kärnporer med SNAP-taggar. Modifieringen är stabilt integrerad. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.

Biomolekylära data

Protein expression	NUP96-SNAP (kärnporskomplexprotein 96, SNAP-tagg)

Hantering

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glukos, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820200a)
Supplements	Komplettera med 10% FBS, 3,0 g/L glukos, stabil glutamin, 2,0 mM natriumpyruvat, 2,2 g/L NaHCO3, 1% NEAA
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 1:4 till 1:6 rekommenderas
Seeding density	1×10^4 celler/cm^2
Fluid renewal	2 till 3 gånger per vecka

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP-celler | 300444

Freeze medium	Som kryokonserveringsmedium 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.

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 °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 °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 x 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-kulturkolvar; 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°C, 5%$_{CO2}$, befuktad atmosfär.

Flask Coating

För optimal vidhäftning och viabilitet efter upptining rekommenderar vi att **kollagenbelagda kolvar eller plattor** används.

U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP-celler | 300444

Freezing Procedure	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °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 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.
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	**Amelogenin**: x,y