

**U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP Hücreleri | 300444****Genel bilgi****Description**

U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP, ana U-2 OS insan hücre hattından türetilen genetik olarak modifiye edilmiş bir osteosarkom hücre hattıdır. Bu hücre hattı, CRISPR/Cas9 aracılı genom düzenleme yoluyla, NUP96 genine bir SNAP etiketi ekleyerek nükleer gözenek kompleksi dinamiklerinin görselleştirilmesini ve incelenmesini sağlayacak şekilde tasarlanmıştır. Nükleer gözenek kompleksleri (NPC'ler), nükleositoloplazmik taşınmanın düzenlenmesi için çok önemlidir ve NUP96, NPC'nin önemli bir bileşenidir ve yapısal bütünlüğü ve işlevinde çok önemli bir rol oynar.

U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP klon no.33'te, SNAP etiketinin NUP96 lokusuna entegrasyonu, canlı hücre görüntüleme ve diğer biyokimyasal analizler için kullanılabilen floresan substratların veya diğer kimyasal problemlerin spesifik ve kovalent bağlanmasına izin verir. Bu özellik onu nükleositoloplazmik taşınmanın moleküler dinamiklerini araştırmak, NPC ile ilgili patolojileri anlamak ve NPC işlevini etkileyen terapötik bileşikleri taramak için paha biçilmez bir araç haline getirmektedir. Hücre hattı ayrıca, yüksek düzeyde genetik stabilite ve kültür kolaylığı içeren ebeveyn U-2 OS hattının özelliklerini koruyarak, hücre biyolojisinde yüksek verimli tarama ve genişletilmiş çalışmalar için uygun hale getirir.

NUP96 genindeki modifikasyonun özgüllüğü nedeniyle, U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP klon no.33, hücresel işlev ve işlev bozukluğu bağlamında NPC bileşenlerinin ayrıntılı çalışması için benzersiz bir model sağlar. Araştırmacılar, NUP96'yı seçici ve hızlı bir şekilde etiketlemek için SNAP-tag sisteminden faydalanarak fizyolojik ve patolojik koşullar altında NPC dinamiklerinin gerçek zamanlı görselleştirilmesini kolaylaştırabilir. Bu özel klon, hem temel araştırmalar hem de uygulamalı biyomedikal çalışmalar için sağlam bir platform görevi görebilir ve hücresel biyoloji, genetik ve onkoloji alanlarına önemli katkılar sağlayabilir.

**Organism**

İnsan

**Tissue**

Kemik

**Disease**

Osteosarkom

**Özellikler****Age**

15 yıl

**Gender**

Kadın

**Ethnicity**

Kafkas

**Growth properties**

Yapışık

**Düzenleyici Veriler**

**U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP Hücreleri | 300444**

<b>Citation</b>	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (Cytion katalog numarası 300444)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_B7FL
<b>Depositor</b>	Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Bu insan osteosarkom hücre hattı (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, klon 33), nükleer gözeneklerin SNAP etiketi kimyasal etiketlemesini kolaylaştıran CRISPR ile tasarlanmış bir NUP96-SNAP füzyonu içerir. Modifikasyon kararlı bir şekilde entegre edilmiştir. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.

**Biyomoleküler Veriler**

<b>Protein expression</b>	NUP96-SNAP (nükleer gözenek kompleksi proteini 96, SNAP-tag)
---------------------------	--

**Elleçleme**

<b>Culture Medium</b>	McCoy's 5a, w: 3.0 g/L Glukoz, w: stabil Glutamin, w: 2.0 mM Sodyum piruvat, w: 2.2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion makale numarası 820200a)
<b>Supplements</b>	Ortamı %10 FBS, 3,0 g/L Glukoz, stabil Glutamin, 2,0 mM Sodyum piruvat, 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , %1 NEAA ile takviye edin
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.
<b>Seeding density</b>	1 x 10 <sup>4</sup> hücre/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	haftada 2 ila 3 kez

**U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP Hücreleri | 300444****Freeze medium**

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyovialleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation Atmosphere**

37°C, %5<sub>CO2</sub>, nemlendirilmiş atmosfer.

**Flask Coating**

Yok

**Freezing Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

## U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP Hücreleri | 300444

### Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

### Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

## Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

### Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.