U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP

300444

ALLGEMEINE INFORMATIONEN

Beschreibung

Die U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP ist eine genetisch veränderte Osteosarkom-Zelllinie, die von der humanen Stammzelllinie U-2 OS abgeleitet ist. Diese Zelllinie wurde durch CRISPR/Cas9-vermittelte Genom-Editierung so verändert, dass sie einen SNAP-Tag am NUP96-Gen enthält, was die Visualisierung und Untersuchung der Dynamik des Kernporenkomplexes ermöglicht. Kernporenkomplexe (NPC) sind für die Regulierung des nukleozytoplasmatischen Transports von entscheidender Bedeutung, und NUP96 ist ein wichtiger Bestandteil des NPC und spielt eine zentrale Rolle für dessen strukturelle Integrität und Funktion.
Der U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP-Klon Nr. 33 ermöglicht durch die Integration des SNAP-Tags am NUP96-Lokus die spezifische und kovalente Bindung von fluoreszierenden Substraten oder anderen chemischen Sonden, die für die Bildgebung in lebenden Zellen und andere biochemische Tests verwendet werden können. Diese Eigenschaft macht sie zu einem unschätzbaren Werkzeug für die Untersuchung der molekularen Dynamik des nukleozytoplasmatischen Transports, das Verständnis von NPC-bezogenen Pathologien und das Screening nach therapeutischen Wirkstoffen, die die NPC-Funktion beeinflussen. Die Zelllinie behält auch die Eigenschaften der elterlichen U-2 OS-Linie bei, darunter ein hohes Maß an genetischer Stabilität und eine einfache Kultivierung, wodurch sie sich für Hochdurchsatz-Screening und erweiterte zellbiologische Studien eignet.
Aufgrund der Spezifität der Modifikation am NUP96-Gen ist der U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP-Klon Nr. 33 ein einzigartiges Modell für die detaillierte Untersuchung von NPC-Komponenten im Zusammenhang mit zellulären Funktionen und Dysfunktionen. Forscher können das SNAP-Tag-System nutzen, um NUP96 selektiv und schnell zu markieren, was die Echtzeit-Visualisierung der NPC-Dynamik unter physiologischen und pathologischen Bedingungen ermöglicht. Dieser spezifische Klon kann als robuste Plattform sowohl für die Grundlagenforschung als auch für angewandte biomedizinische Studien dienen und einen wichtigen Beitrag zu den Bereichen Zellbiologie, Genetik und Onkologie leisten.

Gewebe	Knochen
Krankheit	Osteosarkom

KLASSIFIZIERUNG

Organismus	Mensch
Sex	Weiblich
Wachstumseigenschaften	Anhänger
GVO-Status	GMO-S1

Angaben zum GVO-Status

GMO-S1: This human osteosarcoma cell line (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, clone 33) contains a CRISPR-engineered NUP96-SNAP fusion facilitating SNAP-tag chemical labeling of nuclear pores. The modification is stably integrated. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Biologische Sicherheitsstufe	1

BEZEICHNER

Quellenangabe

U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (Cytion-Katalognummer 300444)

NCBI-Steuer-ID	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FL

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

Einleger	Das Ellenberg-Labor (EMBL)

EXPRESSION UND ANFÄLLIGKEIT

Proteinexpression

NUP96-SNAP (Kernporenkomplex-Protein 96, SNAP-Tag)

HANDHABUNG UND KULTUR

Nährmedium

McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glucose, w: stabiles Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO3 (Cytion-Artikelnummer 820200a)

Inkubationsatmosphäre	37°C, 5%CO2, befeuchtete Atmosphäre.

Nahrungsergänzungsmittel

Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS, 3,0 g/L Glucose, stabilem Glutamin, 2,0 mM Natriumpyruvat, 2,2 g/L NaHCO3, 1% NEAA

Dissoziationsreagenz	Accutase

Subkultivierung

Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Aussaatdichte	1 x 10^4 Zellen/cm^2
Flüssigkeitswechsel	2 bis 3 Mal pro Woche

Auftauen und Kultivierung

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

QUALITÄTSKONTROLLE UND KRYOKONSERVIERUNG

Sterilität

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.
Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

Gefriermedium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Lagerbedingungen

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Versandbedingungen

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

SPENDER

Alter des Spenders	15 Jahre
Ethnische Zugehörigkeit	Kaukasisch

RECHTLICHES UND SICHERHEIT

Sicherheitshinweise

Wenn Sie planen, ein Kryovial in flüssigem Stickstoff zu lagern, um es später aufzutauen, müssen Sie strenge Sicherheitsmaßnahmen einhalten. Geeignete Schutzhandschuhe und -kleidung sind unerlässlich, und beim Transfer der gefrorenen Proben in den oder aus dem Flüssigstickstofftank ist das Tragen einer Gesichtsmaske oder einer Schutzbrille erforderlich. Damit soll die Verletzungsgefahr durch mögliche Explosionen der Kryovials bei der Entnahme, die zum Herausschleudern von scharfen Fragmenten führen können, verringert werden.

Garantie

Bei Cytion stehen wir hinter der Qualität und Lebensfähigkeit unserer Produkte.
Wir garantieren, dass unsere Zellen zu Beginn der Kultur für 60 Tage nach dem Versand aus unseren Einrichtungen lebensfähig sind.
Wir versichern, dass alle Materialien mit den im Analysezertifikat und/oder Produktblatt beschriebenen Spezifikationen übereinstimmen
Ausführliche Informationen finden Sie in unserer <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantieerklärung

Es gelten Vereinbarungen mit Dritten	Yes