U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP

300444

INFORMAZIONI GENERALI

Descrizione

U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP è una linea cellulare geneticamente modificata di osteosarcoma derivata dalla linea cellulare umana U-2 OS. Questa linea cellulare è stata ingegnerizzata attraverso l'editing del genoma mediato da CRISPR/Cas9 per incorporare un SNAP-tag al gene NUP96, consentendo la visualizzazione e lo studio delle dinamiche del complesso dei pori nucleari. I complessi dei pori nucleari (NPC) sono cruciali per la regolazione del trasporto nucleocitoplasmatico e NUP96 è un componente significativo dell'NPC, svolgendo un ruolo centrale nella sua integrità strutturale e nella sua funzione.
Nel clone U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP n.33, l'integrazione dell'etichetta SNAP al locus NUP96 consente l'attacco specifico e covalente di substrati fluorescenti o altre sonde chimiche che possono essere utilizzate per l'imaging di cellule vive e altri saggi biochimici. Questa caratteristica la rende uno strumento prezioso per lo studio delle dinamiche molecolari del trasporto nucleocitoplasmatico, per la comprensione delle patologie legate alla NPC e per lo screening di composti terapeutici che influenzano la funzione della NPC. La linea cellulare mantiene inoltre le caratteristiche della linea parentale U-2 OS, tra cui un elevato livello di stabilità genetica e facilità di coltura, che la rendono adatta per lo screening ad alta produttività e per studi estesi di biologia cellulare.
Grazie alla specificità della modifica del gene NUP96, il clone U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP n.33 rappresenta un modello unico per lo studio dettagliato dei componenti della NPC nel contesto della funzione e della disfunzione cellulare. I ricercatori possono sfruttare il sistema SNAP-tag per etichettare selettivamente e rapidamente NUP96, facilitando la visualizzazione in tempo reale delle dinamiche delle NPC in condizioni fisiologiche e patologiche. Questo clone specifico può fungere da solida piattaforma per la ricerca di base e gli studi biomedici applicati, contribuendo in modo significativo ai campi della biologia cellulare, della genetica e dell'oncologia.

Tessuto	Osso
Malattia	Osteosarcoma

CLASSIFICAZIONE

Organismo	Umano
Sesso	Donna
Proprietà di crescita	Aderente
Presenza di OGM	GMO-S1

Dettagli sullo stato degli OGM

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.

Livello di biosicurezza	1

IDENTIFICATORI

Riferimento bibliografico

U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (numero di catalogo Cytion 300444)

Codice fiscale NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FL
Depositario	Il laboratorio Ellenberg (EMBL)

ESPRESSIONE E SUSCETTIBILITÀ

Espressione proteica

NUP96-SNAP (proteina 96 del complesso del poro nucleare, SNAP-tag)

MANIPOLAZIONE E COLTURA

Terreno di coltura

McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glucosio, w: Glutammina stabile, w: 2,0 mM Sodio piruvato, w: 2,2 g/L NaHCO3 (articolo Cytion numero 820200a)

Atmosfera di incubazione	37°C, 5%CO2, atmosfera umidificata.

Integratori

Integrare il terreno di coltura con 10% FBS, 3,0 g/L di glucosio, Glutammina stabile, 2,0 mM di piruvato di sodio, 2,2 g/L di NaHCO3, 1% di NEAA

Reagente di dissociazione	Accutase

Subcoltura

Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Densità di semina	1 x 10^4 cellule/cm^2
Rinnovo dei fluidi	da 2 a 3 volte alla settimana

Scongelamento e coltura

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.

CONTROLLO DI QUALITÀ E CRIOCONSERVAZIONE

Sterilità

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.
Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Terreno di coltura congelato	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Condizioni di conservazione

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Condizioni di spedizione

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

DONATORE

Età dei donatori	15 anni
Etnia	Caucasico

ASPETTI LEGALI E DI SICUREZZA

Misure di sicurezza

Quando si prevede di conservare una crioviale in azoto liquido per un futuro scongelamento, è obbligatorio attenersi a rigorose misure di sicurezza. Guanti e indumenti protettivi appropriati sono essenziali e l'uso di una maschera facciale o di occhiali di sicurezza è richiesto durante il trasferimento dei campioni congelati da o verso il serbatoio di azoto liquido. Questo per ridurre il rischio di lesioni dovute a potenziali esplosioni di crioviali al momento della rimozione, che possono provocare la proiezione di frammenti taglienti.

Garanzia

Noi di Cytion garantiamo la qualità e la vitalità dei nostri prodotti.
Garantiamo che le nostre cellule saranno vitali all'inizio della coltura per 60 giorni dopo la spedizione dai nostri stabilimenti.
Assicuriamo che tutti i materiali sono conformi alle specifiche descritte nel Certificato di Analisi e/o nella Scheda Prodotto
Per tutti i dettagli, consultare la nostra <a href=""/Chi-siamo/Garanzia/"" hreflang=""x-default"">Dichiarazione di Garanzia

Si applicano gli accordi con terze parti	Yes