# U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP

300444

## ALGEMENE INFORMATIE

### Beschrijving

De U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP is een genetisch gemodificeerde osteosarcoom cellijn afgeleid van de ouder U-2 OS menselijke cellijn. Deze cellijn is gemodificeerd door CRISPR/Cas9-gemedieerde genoombewerking om een SNAP-tag op te nemen in het NUP96-gen, waardoor de dynamica van het nucleaire poriecomplex kan worden gevisualiseerd en bestudeerd. Nucleaire poriecomplexen (NPC's) zijn cruciaal voor de regulatie van nucleocytoplasmatisch transport, en NUP96 is een belangrijk onderdeel van het NPC en speelt een centrale rol in de structurele integriteit en functie ervan.
In U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP kloon nr. 33 zorgt de integratie van de SNAP-tag in de NUP96 locus voor een specifieke en covalente hechting van fluorescerende substraten of andere chemische probes die gebruikt kunnen worden voor live-cell imaging en andere biochemische analyses. Deze eigenschap maakt het een hulpmiddel van onschatbare waarde voor het onderzoeken van de moleculaire dynamica van nucleocytoplasmatisch transport, het begrijpen van NPC-gerelateerde pathologieën en het screenen op therapeutische verbindingen die de NPC-functie beïnvloeden. De cellijn behoudt ook de eigenschappen van de ouderlijke U-2 OS lijn, waaronder een hoge mate van genetische stabiliteit en kweekgemak, waardoor het geschikt is voor high-throughput screening en uitgebreide studies in de celbiologie.
Door de specificiteit van de modificatie op het NUP96-gen biedt U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP kloon nr. 33 een uniek model voor de gedetailleerde studie van NPC-componenten in de context van cellulaire functie en disfunctie. Onderzoekers kunnen het SNAP-tag systeem gebruiken om NUP96 selectief en snel te labelen, waardoor real-time visualisatie van NPC dynamica onder fysiologische en pathologische omstandigheden mogelijk wordt. Deze specifieke kloon kan dienen als een robuust platform voor zowel fundamenteel onderzoek als toegepaste biomedische studies en levert een belangrijke bijdrage aan de celbiologie, genetica en oncologie.

| | |
|---|---|
| **Weefsel** | Bot |
| **Ziekte** | Osteosarcoom |

## CLASSIFICATIE

| | |
|---|---|
| **Organisme** | Mens |
| **Seks** | Vrouw |
| **Groei-eigenschappen** | Aanhanger |
| **GGO-status** | GMO-S1 |

### Details over de GGO-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.

| | |
|---|---|
| **Bioveiligheidsniveau** | 1 |

## IDENTIFICATIEGEGEVENS

### Bronvermelding

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

| | |
|---|---|
| **NCBI-belastingnummer** | 9606 |
| **Cellosaurus** | CVCL_B7FL |
| **Inlegger** | Het Ellenberg Lab (EMBL) |

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

## EXPRESSIE EN VATBAARHEID

### Eiwit-expressie

NUP96-SNAP (eiwit 96 van het nucleaire poriëncomplex, SNAP-tag)

## BEHANDELING EN KWEEK

### Kweekmedium

McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glucose, w: stabiel Glutamine, w: 2,0 mM Natriumpyruvaat, w: 2,2 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820200a)

| | |
|---|---|
| **Incubatieomgeving** | 37°C, 5%CO2, bevochtigde atmosfeer. |

### Supplementen

Vul het medium aan met 10% FBS, 3,0 g/L Glucose, stabiele Glutamine, 2,0 mM Natriumpyruvaat, 2,2 g/L NaHCO3, 1% NEAA

| | |
|---|---|
| **Dissociatiereagens** | Accutase |

### Heruitplanten

Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

| | |
|---|---|
| **Zaaidichtheid** | 1 x $10^4$ cellen/$cm^2$ |
| **Vloeistofverversing** | 2 tot 3 keer per week |

### Ontdooien en kweken

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.

## KWALITEITSCONTROLE EN CRYOPRESERVATIE

### Onvruchtbaarheid

Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.
Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

| | |
|---|---|
| **Kweekmedium invriezen** | Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen. |

### Opslagvoorwaarden

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

### Verzendvoorwaarden

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

## DONATEUR

| | |
|---|---|
| **Leeftijd van de donor** | 15 jaar |
| **Etnische afkomst** | Kaukasisch |

## JURIDISCHE EN VEILIGHEIDSASPECTEN

### Veiligheidsmaatregelen

Wanneer men van plan is om een cryovial in vloeibare stikstof op te slaan om later te ontdooien, is het verplicht om strenge veiligheidsmaatregelen in acht te nemen. Passende beschermende handschoenen en kleding zijn essentieel en het gebruik van een gezichtsmasker of veiligheidsbril is vereist tijdens het overbrengen van bevroren monsters naar of uit de tank met vloeibare stikstof. Dit is om het risico op letsel door mogelijke cryoviale explosies bij het verwijderen te beperken, wat kan resulteren in de projectie van scherpe fragmenten.

### Garantie

Bij Cytion staan we achter de kwaliteit en levensvatbaarheid van onze producten.
We garanderen dat onze cellen levensvatbaar zijn bij het begin van de kweek gedurende 60 dagen na verzending vanuit onze faciliteiten.
We verzekeren dat alle materialen voldoen aan de specificaties beschreven in het analysecertificaat en/of productblad
Raadpleeg voor volledige informatie onze <a href=""/Wie-zijn-wij/Garantie/"" hreflang=""x-default"">Garantieverklaring

| | |
|---|---|
| **Er gelden overeenkomsten met derden** | Yes |

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