U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP

300444

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

A U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP é uma linha celular de osteossarcoma geneticamente modificada derivada da linha celular humana U-2 OS. Esta linha celular foi modificada através da edição do genoma mediada por CRISPR/Cas9 para incorporar um marcador SNAP no gene NUP96, permitindo a visualização e o estudo da dinâmica do complexo de poros nucleares. Os complexos de poros nucleares (NPCs) são cruciais para a regulação do transporte nucleocitoplasmático, e o NUP96 é um componente significativo do NPC, desempenhando um papel fundamental na sua integridade estrutural e função.
No clone U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP n.º 33, a integração do SNAP-tag no locus NUP96 permite a ligação específica e covalente de substratos fluorescentes ou outras sondas químicas que podem ser utilizadas para imagiologia de células vivas e outros ensaios bioquímicos. Esta caraterística torna-a uma ferramenta inestimável para a investigação da dinâmica molecular do transporte nucleocitoplasmático, para a compreensão das patologias relacionadas com as NPC e para o rastreio de compostos terapêuticos que afectam a função das NPC. A linha celular também mantém as caraterísticas da linha parental U-2 OS, o que inclui um elevado nível de estabilidade genética e facilidade de cultura, tornando-a adequada para o rastreio de elevado rendimento e estudos alargados em biologia celular.
Devido à especificidade da modificação no gene NUP96, o clone U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP n.º 33 constitui um modelo único para o estudo pormenorizado dos componentes do NPC no contexto da função e disfunção celular. Os investigadores podem explorar o sistema SNAP-tag para marcar selectiva e rapidamente o NUP96, facilitando a visualização em tempo real da dinâmica do NPC em condições fisiológicas e patológicas. Este clone específico pode servir como uma plataforma robusta tanto para a investigação básica como para estudos biomédicos aplicados, contribuindo significativamente para os domínios da biologia celular, genética e oncologia.

Tecido	Osso
Doença	Osteossarcoma

CLASSIFICAÇÃO

Organismo	Humano
Sexo	Feminino
Propriedades de crescimento	Aderente
Estatuto em matéria de OGM	GMO-S1

Detalhes sobre o estatuto dos 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.

Nível de biossegurança	1

IDENTIFICADORES

Referência

U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (número de catálogo 300444 da Cytion)

Número de identificação fiscal do NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FL

Depositante	O Laboratório Ellenberg (EMBL)

EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

Expressão proteica

NUP96-SNAP (proteína 96 do complexo do poro nuclear, SNAP-tag)

MANUSEAMENTO E CULTURA

Meio de cultura

McCoys 5a, com: 3,0 g/L de glucose, com: glutamina estável, com: 2,0 mM de piruvato de sódio, com: 2,2 g/L de NaHCO3 (número de artigo Cytion 820200a)

Atmosfera de incubação	37°C, 5%CO2, atmosfera humidificada.

Suplementos

Suplementar o meio com 10% de FBS, 3,0 g/L de glucose, glutamina estável, 2,0 mM de piruvato de sódio, 2,2 g/L de NaHCO3, 1% de NEAA

Reagente de dissociação	Accutase

Subcultura

Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Densidade de sementeira	1 x 10^4 células/cm^2
Renovação de fluidos	2 a 3 vezes por semana

Descongelamento e cultura

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.

CONTROLO DE QUALIDADE E CRIOPRESERVAÇÃO

Esterilidade

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.
Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Meio de congelação	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Condições de armazenamento

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Condições de envio

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

DOADOR

Idade do dador	15 anos
Etnia	Caucasiano

ASPECTOS LEGAIS E DE SEGURANÇA

Precauções de segurança

Quando se planeia armazenar um criovial em nitrogénio líquido para descongelação futura, é obrigatório aderir a medidas de segurança rigorosas. Luvas e vestuário de proteção adequados são essenciais, e a utilização de uma máscara facial ou óculos de segurança é necessária durante a transferência de amostras congeladas para ou do tanque de nitrogénio líquido. Isto destina-se a mitigar o risco de ferimentos provocados por potenciais explosões de crioviais após a remoção, que podem resultar na projeção de fragmentos afiados.

Garantia

Na Cytion, nós garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células serão viáveis no início da cultura por 60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no Certificado de Análise e/ou Folha de Produto
Para mais informações, consulte a nossa <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Declaração de Garantia

Aplicam-se os acordos com terceiros	Yes