U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP

300444

GENERAL INFORMATION

Description

A U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP é uma linhagem celular de osteossarcoma geneticamente modificada, derivada da linhagem celular humana parental U-2 OS. Essa linhagem celular foi modificada por meio da edição do genoma mediada por CRISPR/Cas9 para incorporar uma etiqueta 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 em sua integridade estrutural e função.
No clone nº 33 da linha U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP, a integração da SNAP-tag no locus do NUP96 permite a ligação específica e covalente de substratos fluorescentes ou outras sondas químicas que podem ser utilizadas para imagens de células vivas e outros ensaios bioquímicos. Essa característica torna-a uma ferramenta inestimável para investigar a dinâmica molecular do transporte nucleocitoplasmático, compreender patologias relacionadas ao NPC e selecionar compostos terapêuticos que afetem a função do NPC. A linhagem celular também mantém as características da linhagem parental U-2 OS, o que inclui um alto nível de estabilidade genética e facilidade de cultura, tornando-a adequada para triagem de alto rendimento e estudos aprofundados em biologia celular.
Devido à especificidade da modificação no gene NUP96, o clone nº 33 da U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP oferece um modelo único para o estudo detalhado dos componentes do NPC no contexto da função e disfunção celular. Os pesquisadores podem utilizar o sistema SNAP-tag para marcar seletiva e rapidamente o NUP96, facilitando a visualização em tempo real da dinâmica do NPC em condições fisiológicas e patológicas. Esse clone específico pode servir como uma plataforma robusta tanto para pesquisa básica quanto para estudos biomédicos aplicados, contribuindo significativamente para os campos da biologia celular, genética e oncologia.

Tissue	Osso
Disease	Osteossarcoma

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

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.

Biosafety level	1

IDENTIFIERS

Citation

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

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FL
Depositor	Laboratório Ellenberg (EMBL)

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

NUP96-SNAP (proteína 96 do complexo de poros nucleares, SNAP-tag)

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

McCoys 5a, p: 3,0 g/L de glicose, p: glutamina estável, p: 2,0 mM de piruvato de sódio, p: 2,2 g/L de $NaHCO_3$ (número de artigo da Cytion 820200a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.

Supplements

Adicione ao meio 10% de FBS, 3,0 g/L de glicose, glutamina estável, 2,0 mM de piruvato de sódio, 2,2 g/L de $NaHCO_3$ e 1% de NEAA

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

Seeding density	1 x 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.
Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Storage conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Shipping conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

DONOR

Donor age	15 anos
Ethnicity	caucasiano

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Ao planejar o armazenamento de um criotubo em nitrogênio líquido para descongelamento futuro, é obrigatório seguir medidas de segurança rigorosas. É essencial o uso de luvas e roupas de proteção adequadas, além do uso obrigatório de máscara facial ou óculos de proteção durante a transferência de amostras congeladas para dentro ou para fora do tanque de nitrogênio líquido. Isso visa mitigar o risco de ferimentos decorrentes de possíveis explosões dos criotubos durante a remoção, o que pode resultar na projeção de fragmentos pontiagudos.

Warranty

Na Cytion, garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células permanecerão 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 na Ficha Técnica do Produto.
Para obter todos os detalhes, consulte nossa
Declaração de Garantia.

Third-party agreements apply	Yes