U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP

300444

GENERAL INFORMATION

Description

Dòng tế bào ung thư xương U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP là một dòng tế bào ung thư xương được biến đổi gen, được phát triển từ dòng tế bào người U-2 OS ban đầu. Dòng tế bào này đã được chỉnh sửa gen bằng công nghệ CRISPR/Cas9 để tích hợp một thẻ SNAP vào gen NUP96, cho phép quan sát và nghiên cứu động học của phức hợp lỗ nhân. Phức hợp lỗ nhân (NPC) đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa vận chuyển nhân-chất lỏng, và NUP96 là thành phần quan trọng của NPC, đóng vai trò then chốt trong tính toàn vẹn cấu trúc và chức năng của nó.

Trong dòng tế bào U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP clone no.33, việc tích hợp SNAP-tag tại vị trí NUP96 cho phép gắn kết cụ thể và bền vững các chất nền huỳnh quang hoặc các chất chỉ thị hóa học khác, có thể được sử dụng cho quan sát tế bào sống và các thử nghiệm sinh hóa khác. Tính năng này khiến nó trở thành công cụ vô giá để nghiên cứu động học phân tử của vận chuyển nhân-chất lỏng, hiểu rõ các bệnh lý liên quan đến NPC và sàng lọc các hợp chất điều trị ảnh hưởng đến chức năng của NPC. Dòng tế bào này cũng giữ nguyên các đặc tính của dòng tế bào cha U-2 OS, bao gồm độ ổn định di truyền cao và dễ nuôi cấy, khiến nó phù hợp cho sàng lọc quy mô lớn và các nghiên cứu kéo dài trong sinh học tế bào.

Do tính đặc hiệu của sự biến đổi tại gen NUP96, dòng tế bào U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP số 33 cung cấp một mô hình độc đáo để nghiên cứu chi tiết các thành phần NPC trong bối cảnh chức năng và rối loạn tế bào. Các nhà nghiên cứu có thể tận dụng hệ thống SNAP-tag để đánh dấu chọn lọc và nhanh chóng NUP96, giúp quan sát động học của NPC trong điều kiện sinh lý và bệnh lý. Clone cụ thể này có thể đóng vai trò như một nền tảng vững chắc cho cả nghiên cứu cơ bản và ứng dụng y sinh, góp phần quan trọng vào các lĩnh vực sinh học tế bào, di truyền học và ung thư học.

Tissue	Xương
Disease	U xương

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 (Số catalog Cytion 300444)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FL
Depositor	Phòng thí nghiệm Ellenberg (EMBL)

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

NUP96-SNAP (protein phức hợp lỗ hạt nhân 96, SNAP-tag)

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

McCoys 5a, chứa: 3,0 g/L glucose, chứa: glutamine ổn định, chứa: 2,2 mM natri pyruvate, chứa: 2,2 g/L $NaHCO_3$ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820200a)

Incubation atmosphere	37°C, 5%CO_2, môi trường ẩm.

Supplements

Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 10% huyết thanh bò (FBS), 3,0 g/L glucose, glutamine ổn định, 2,0 mM natri pyruvate, 2,2 g/L $NaHCO_3$, 1% NEAA

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.

Seeding density	1 × 10^4 tế bào/cm^2
Fluid renewal	2 đến 3 lần mỗi tuần

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

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.
Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.

Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để cải thiện quá trình phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Storage conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng −150 đến −196 °C. Việc bảo quản ở −80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Shipping conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

DONOR

Donor age	15 năm
Ethnicity	Người da trắng

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Khi lập kế hoạch lưu trữ ống cryovial trong nitơ lỏng để rã đông sau này, việc tuân thủ các biện pháp an toàn nghiêm ngặt là bắt buộc. Găng tay và quần áo bảo hộ phù hợp là điều cần thiết, và việc sử dụng khẩu trang hoặc kính bảo hộ là bắt buộc trong quá trình chuyển mẫu đông lạnh vào hoặc ra khỏi bể nitơ lỏng. Điều này nhằm giảm thiểu nguy cơ chấn thương do nổ ống cryovial khi lấy ra, có thể dẫn đến việc văng ra các mảnh vỡ sắc nhọn.

Warranty

Tại Cytion, chúng tôi cam kết về chất lượng và khả năng sống của các sản phẩm của mình.
Chúng tôi đảm bảo rằng các tế bào của chúng tôi sẽ có khả năng sống tại thời điểm bắt đầu nuôi cấy trong
60 ngày kể từ khi vận chuyển từ cơ sở của chúng tôi.
Chúng tôi cam kết rằng tất cả các vật liệu tuân thủ các thông số kỹ thuật được mô tả trong
Giấy chứng nhận phân tích và/hoặc Tài liệu sản phẩm.
Để biết chi tiết đầy đủ, vui lòng tham khảo
<a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Tuyên bố Bảo hành.

Third-party agreements apply	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