# U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple

300461

## INFORMACJE OGÓLNE

### Opis

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple to genetycznie zmodyfikowana linia komórek kostniakomięsaka pochodząca z ludzkiej linii komórkowej U-2 OS, znanej z silnej charakterystyki wzrostu i użyteczności w różnych badaniach biologicznych. Ten konkretny klon został zmodyfikowany przy użyciu technologii edycji genów CRISPR/Cas9 w celu włączenia mMaple, fotokonwertowalnego białka fluorescencyjnego, do genu NUP96. Białko mMaple pozwala na zaawansowane techniki obrazowania, takie jak obrazowanie żywych komórek i mikroskopia superrozdzielcza, zapewniając dynamiczny wgląd w zachowanie kompleksu porów jądrowych (NPC) i mechanizmy importu-eksportu komórek przez otoczkę jądrową.
Gen NUP96, który koduje kluczowy składnik NPC, jest niezbędny do transportu nukleocytoplazmatycznego. Zmiana NUP96 może wpływać nie tylko na mechanizmy transportu, ale także na ogólną architekturę i funkcję jądra. Ta linia komórkowa służy zatem jako doskonały model do badania patologii związanych z NPC oraz roli transportu jądrowego w metabolizmie i sygnalizacji komórkowej. Integracja mMaple z NUP96 pozwala na śledzenie w czasie rzeczywistym i wizualizację dynamiki NUP96 in vivo, co czyni go niezbędnym narzędziem dla naukowców koncentrujących się na badaniach jądra komórkowego i tych badających konsekwencje dysfunkcji NPC w chorobach takich jak rak i infekcje wirusowe.
Jako wyspecjalizowane narzędzie, klon U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple no.16 obsługuje obrazowanie w wysokiej rozdzielczości i dostarcza istotnych danych dotyczących przestrzennego i czasowego rozkładu składników NPC. Jest szczególnie cenny w eksperymentach wymagających szczegółowej analizy ekspresji genów, lokalizacji białek i transportu jądrowego w warunkach fizjologicznych i patologicznych, ułatwiając głębsze zrozumienie procesów komórkowych na poziomie molekularnym.

| | |
|---|---|
| **Chusteczka** | Kość |
| **Choroba** | Mięsak kościopochodny |

## KLASYFIKACJA

| | |
|---|---|
| **Organizm** | Człowiek |
| **Seks** | Kobieta |
| **Właściwości związane ze wzrostem** | Zwolennik |
| **Status GMO** | GMO-S1 |

### Szczegółowe informacje dotyczące statusu GMO

GMO-S1: This human osteosarcoma cell line (U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple, clone 16) contains a CRISPR-mediated NUP96-mMaple fusion enabling photoconvertible labeling of nuclear pore structures. The construct is stably present. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

| | |
|---|---|
| **Poziom bezpieczeństwa biologicznego** | 1 |

## IDENTYFIKATORY

### Źródło

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (numer katalogowy Cytion 300461)

| | |
|---|---|
| **Numer identyfikacji podatkowej NCBI** | 9606 |
| **Cellosaurus** | CVCL_B7FK |
| **Wkładca** | Laboratorium Ellenberg (EMBL) |

## EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

**Ekspresja białek**

NUP96-mMaple (endogenne białko kompleksu porów jądrowych 96, znakowane mMaple)

## POSTĘPOWANIE I HODOWLA

**Pożywka hodowlana**

McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukozy, w: stabilna glutamina, w: 2,0 mM pirogronianu sodu, w: 2,2 g/l NaHCO3 (numer artykułu Cytion 820200a)

| | |
|---|---|
| **Atmosfera inkubacyjna** | 37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera. |

**Suplementy**

Uzupełnić podłoże 10% FBS, 1% NEAA

| | |
|---|---|
| **Odczynnik dysocjacyjny** | Accutase |

**Hodowla komórek w subkulturze**

Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

| | |
|---|---|
| **Gęstość wysiewu** | 1 x $10^4$ komórek/$cm^2$ |
| **Odnawianie płynów** | 2 do 3 razy w tygodniu |

**Rozmrażanie i hodowla**

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.

## KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

**Bezpłodność**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.
Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

| | |
|---|---|
| **Pożywka do zamrażania** | Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją. |

**Warunki przechowywania**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C.
Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

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

**Warunki wysyłki**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## DARCZYŃCA

| | |
|---|---|
| **Wiek dawcy** | 15 lat |
| **Pochodzenie etniczne** | Kaukaski |

## KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

**Środki bezpieczeństwa**

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

**Gwarancja**

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

| | |
|---|---|
| **Obowiązują umowy z podmiotami zewnętrznymi** | Yes |