

Células U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461

Información general

Description

La U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple es una línea celular de osteosarcoma modificada genéticamente derivada de la línea celular humana U-2 OS, conocida por sus robustas características de crecimiento y su utilidad en diversos estudios biológicos. Este clon en particular ha sido modificado utilizando la tecnología de edición genética CRISPR/Cas9 para incorporar mMaple, una proteína fluorescente fotoconvertible, al gen NUP96. La proteína mMaple permite técnicas de imagen avanzadas como la imagen de células vivas y la microscopía de súper-resolución, proporcionando una visión dinámica del comportamiento del complejo de poros nucleares (NPC) y de los mecanismos de importación-exportación celular a través de la envoltura nuclear.

El gen NUP96, que codifica un componente crucial del CNP, es vital para el transporte nucleocitoplasmático. La alteración de NUP96 puede afectar no sólo a los mecanismos de transporte, sino también a la arquitectura y función nucleares en general. Así pues, esta línea celular constituye un modelo excelente para estudiar las patologías relacionadas con el CNP y el papel del transporte nuclear en el metabolismo y la señalización celulares. La integración de mMaple en NUP96 permite el seguimiento y la visualización en tiempo real de la dinámica de NUP96 in vivo, lo que la convierte en una herramienta indispensable para los investigadores centrados en el estudio del núcleo celular y para aquellos que exploran las implicaciones de las disfunciones de la CPN en enfermedades como el cáncer y las infecciones víricas.

Como herramienta especializada, el clon U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple n.º 16 admite imágenes de alta resolución y proporciona datos sustanciales sobre la distribución espacial y temporal de los componentes de la CNF. Es especialmente valioso para experimentos que requieren un análisis detallado de la expresión génica, la localización de proteínas y el transporte nuclear en condiciones fisiológicas y patológicas, facilitando una comprensión más profunda de los procesos celulares a nivel molecular.

Organism Humano

Tissue Hueso

Disease Osteosarcoma

Características

Age 15 años

Gender Mujer

Ethnicity Caucásico

Growth properties Adherente

Datos reglamentarios

Células U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (número de catálogo de Cytion 300461)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FK
Depositor	Laboratorio Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Esta línea celular de osteosarcoma humano (U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple, clon 16) contiene una fusión NUP96-mMaple mediada por CRISPR que permite el marcaje fotoconvertible de estructuras de poros nucleares. La construcción está presente de forma estable. Esta clasificación sólo se aplica en Alemania y puede diferir en otros países.

Datos biomoleculares

Protein expression	NUP96-mMaple (proteína 96 del complejo de poro nuclear endógeno, marcada con mMaple)
---------------------------	--

Manejo de

Culture Medium	McCoy's 5a, w: 3,0 g/L Glucosa, w: Glutamina estable, w: 2,0 mM Piruvato sódico, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ (número de artículo de Cytion 820200a)
Supplements	Suplementar el medio con 10% FBS, 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.
Split ratio	Se recomienda una proporción de 1:3 a 1:6
Seeding density	1 x 10 ⁴ células/cm ²

Células U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461

Fluid renewal de 2 a 3 veces por semana

Freeze medium Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , atmósfera humidificada.

Flask Coating Ninguno

Células U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461

Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.