

Células U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448

Información general

Description

La U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo es una línea celular modificada genéticamente derivada de las células de osteosarcoma humano U-2 OS. Esta línea celular ha sido modificada utilizando la tecnología CRISPR-Cas9 para incorporar un HaloTag en el locus del gen NUP96. NUP96, parte del complejo del poro nuclear, desempeña un papel crítico en el transporte nuclear y la regulación celular. La introducción del HaloTag permite la visualización precisa y la caracterización bioquímica de la dinámica y las interacciones de NUP96 dentro de la célula.

Al facilitar la unión covalente de ligandos fluorescentes u otras sondas, el HaloTag permite la obtención de imágenes en tiempo real y proporciona una potente herramienta para estudiar los mecanismos de transporte nuclear en células vivas. Este clon en particular, el número 252, ha sido seleccionado por su expresión estable del NUP96 marcado con HaloTag, lo que garantiza un rendimiento constante en configuraciones experimentales. Esta característica lo hace muy adecuado para técnicas de imagen de alta resolución y estudios de interacción molecular, apoyando así la investigación avanzada en biología celular, particularmente en el contexto de la función nuclear y la regulación genética.

Organism Humano

Tissue Hueso

Disease Osteosarcoma

Características

Age 15 años

Gender Mujer

Ethnicity Caucásico

Morphology De tipo epitelial

Growth properties Adherente

Datos reglamentarios

Citation U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo (número de catálogo de Cytion 300448)

Biosafety level 1

Células U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FI**Depositor** Laboratorio Ellenberg (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Esta línea celular de osteosarcoma humano (U2OS-CRISPR-NUP96-Halo, clon 252) contiene una fusión NUP96-Halo editada por CRISPR generada mediante liberación lentiviral, que permite el marcaje fluorescente de complejos de poro nuclear. La modificación está integrada de forma estable. Esta clasificación sólo se aplica en Alemania y puede diferir en otros países.

Datos biomoleculares

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

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 NaHCO₃ (número de artículo de Cytion 820200a)

Supplements Complementar el medio con un 10% de FBS

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 1:4

Seeding density 1×10^4 células/cm²

Fluid renewal de 2 a 3 veces por semana

Células U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448**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%_{CO2}, atmósfera humidificada.

Flask Coating

Ninguno

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.

Células U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448**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, colocar 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 y análisis molecular**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.

Perfil de STR

CSF1PO: 13,14
D13S317: 13,13
D16S539: 9,11
D5S818: 11,12
D7S820: 11,12
TH01: 9.3,9.3
TPOX: 11,12
vWA: 14,18
D3S1358: 16,16
D21S11: 31,32
D18S51: 12,14
Penta E: 10,13
Penta D: 9,9
D8S1179: 12,14
FGA: 20,20

Alelos HLA

A*: '02:01:01, '32:01:01
B*: '44:02:01, '44:27:01
C*: '05:01:01, '07:04:01
DRB1*: '09:01:02G, '14:54:01
DQA1*: '01:04:01, '03:02:01
DQB1*: '03:03:02, '05:03:01
DPB1*: '02:01:02, '04:01:01
E: '01:01:01