

Células U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444**Información general****Description**

U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP es una línea celular de osteosarcoma genéticamente modificada derivada de la línea celular humana U-2 OS. Esta línea celular ha sido modificada mediante la edición del genoma mediada por CRISPR/Cas9 para incorporar una etiqueta SNAP en el gen NUP96, lo que permite la visualización y el estudio de la dinámica del complejo de poros nucleares. Los complejos de poro nuclear (CPN) son cruciales para la regulación del transporte nucleocitoplasmático, y NUP96 es un componente significativo del CPN, desempeñando un papel fundamental en su integridad estructural y función.

En el clon U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP n.º 33, la integración de la etiqueta SNAP en el locus NUP96 permite la unión específica y covalente de sustratos fluorescentes u otras sondas químicas que pueden utilizarse para la obtención de imágenes de células vivas y otros ensayos bioquímicos. Esta característica la convierte en una herramienta inestimable para investigar la dinámica molecular del transporte nucleocitoplásmico, comprender las patologías relacionadas con la CPN y buscar compuestos terapéuticos que afecten a la función de la CPN. La línea celular también conserva las características de la línea parental U-2 OS, que incluyen un alto nivel de estabilidad genética y facilidad de cultivo, lo que la hace adecuada para el cribado de alto rendimiento y estudios ampliados en biología celular.

Debido a la especificidad de la modificación en el gen NUP96, el clon U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP no.33 proporciona un modelo único para el estudio detallado de los componentes de la CPN en el contexto de la función y disfunción celular. Los investigadores pueden explotar el sistema de etiquetado SNAP para etiquetar NUP96 de forma selectiva y rápida, facilitando la visualización en tiempo real de la dinámica de la CPN en condiciones fisiológicas y patológicas. Este clon específico puede servir como plataforma robusta tanto para la investigación básica como para estudios biomédicos aplicados, contribuyendo significativamente a los campos de la biología celular, la genética y la oncología.

Organism Humano**Tissue** Hueso**Disease** Osteosarcoma**Características****Age** 15 años**Gender** Mujer**Ethnicity** Caucásico**Growth properties** Adherente**Datos reglamentarios**

Células U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (número de catálogo de Cytion 300444)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FL
Depositor	Laboratorio Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Esta línea celular de osteosarcoma humano (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, clon 33) contiene una fusión NUP96-SNAP modificada por CRISPR que facilita el etiquetado químico de los poros nucleares con etiquetas SNAP. 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-SNAP (proteína 96 del complejo de poros nucleares, etiqueta SNAP)
---------------------------	---

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, 3,0 g/L de Glucosa, Glutamina estable, 2,0 mM de Piruvato sódico, 2,2 g/L de NaHCO ₃ , 1% de 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 1:4 a 1:6
Seeding density	1 x 10 ⁴ células/cm ²

Células U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

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-SNAP | 300444

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.

Perfil de STR

Amelogenin: x,y