

Células U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174**Información general****Description**

La U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP es una línea celular modificada genéticamente derivada de la línea madre de osteosarcoma humano U-2 OS. Esta línea celular incorpora una inserción dirigida de la proteína verde fluorescente monomérica mejorada (mEGFP) en el locus del gen NUP96, lograda mediante la tecnología de edición genética CRISPR-Cas9. NUP96, parte del complejo del poro nuclear, es esencial para el transporte nuclear, y su fusión con mEGFP permite la visualización en tiempo real de la dinámica del poro nuclear bajo microscopía fluorescente, proporcionando información valiosa sobre los mecanismos de transporte nuclear y el tráfico nucleocitoplasmático.

Este clon específico, numerado 195, ha sido seleccionado por su expresión estable de la proteína de fusión NUP96-mEGFP y mantiene las características típicas del linaje U-2 OS, incluyendo una estructura citoesquelética robusta que es crítica en estudios relacionados con la migración y metástasis de células cancerosas. La aplicación de la tecnología CRISPR garantiza una edición génica precisa, minimizando los efectos fuera del objetivo que podrían comprometer la integridad de los resultados experimentales. Esto hace que el clon U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP n.º 195 sea particularmente útil para técnicas de imagen de alta resolución y estudios detallados de arquitectura celular, ayudando en la investigación avanzada en biología celular, investigación del cáncer y fenómenos de transporte nuclear.

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-mEGFP clon no.195 (Cytion número de catálogo 300174)

Células U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FJ**Depositor** Laboratorio Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Esta línea celular de osteosarcoma humano (U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP, clon 195) contiene una fusión NUP96-mEGFP modificada mediante CRISPR e introducida por vía lentiviral, lo que permite el seguimiento fluorescente de los complejos de poros nucleares. La modificación está integrada de forma estable. Esta clasificación sólo se aplica en Alemania y puede diferir en otros países.**Datos biomoleculares****Protein expression** MEGFP (proteína 96 del complejo de poros nucleares, marcada con mEGFP)**Manejo de****Culture Medium** McCoys 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** 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 1:2 cada 2 ó 3 días. Puede conservarse hasta 1 día después de la confluencia**Seeding density** De 2 a 3 x 10⁴ células/cm²**Fluid renewal** de 2 a 3 veces por semana

Células U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

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 $300 \times g$ 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

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-mEGFP | 300174

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

PEZ6: CLS-354