

Cellule U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448**Informazioni generali****Description**

U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo è una linea cellulare geneticamente modificata derivata dalle cellule dell'osteosarcoma umano U-2 OS. Questa linea cellulare è stata modificata con la tecnologia CRISPR-Cas9 per incorporare un HaloTag nel locus del gene NUP96. NUP96, parte del complesso del poro nucleare, svolge un ruolo critico nel trasporto nucleare e nella regolazione cellulare. L'introduzione dell'HaloTag consente la visualizzazione precisa e la caratterizzazione biochimica delle dinamiche e delle interazioni di NUP96 all'interno della cellula.

Facilitando l'aggancio covalente di ligandi fluorescenti o altre sonde, l'HaloTag consente l'imaging in tempo reale e fornisce un potente strumento per studiare i meccanismi di trasporto nucleare nelle cellule viventi. Questo particolare clone, il numero 252, è stato selezionato per la sua espressione stabile di HaloTagged NUP96, che garantisce prestazioni costanti nelle configurazioni sperimentali. Questa caratteristica lo rende molto adatto alle tecniche di imaging ad alta risoluzione e agli studi di interazione molecolare, supportando così la ricerca avanzata nella biologia cellulare, in particolare nel contesto della funzione nucleare e della regolazione genetica.

Organism Umano**Tissue** Osso**Disease** Osteosarcoma**Caratteristiche****Age** 15 anni**Gender** Donna**Ethnicity** Caucasico**Morphology** Simile all'epitelio**Growth properties** Aderente**Dati normativi****Citation** U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo (numero di catalogo Cytion 300448)**Biosafety level** 1

Cellule U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FI**Depositor** Il laboratorio Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: questa linea cellulare di osteosarcoma umano (U2OS-CRISPR-NUP96-Halo, clone 252) contiene una fusione NUP96-Halo modificata con CRISPR e generata tramite somministrazione lentivirale, che consente di etichettare in modo fluorescente i complessi del poro nucleare. La modifica è integrata in modo stabile. Questa classificazione si applica solo in Germania e può differire altrove.**Dati biomolecolari****Protein expression** NUP96-Halo (proteina 96 del complesso del poro nucleare endogeno, marcata Halo)**Manipolazione****Culture Medium** McCoy's 5a, w: 3,0 g/L Glucosio, w: Glutamina stabile, w: 2,0 mM Sodio piruvato, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (articolo Cytion numero 820200a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospingere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Split ratio** Si raccomanda un rapporto da 1:3 a 1:4**Seeding density** 1×10^4 cellule/cm²**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo 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

Alleli 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