

## Cellule U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

## Informazioni generali

## Description

La U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP è una linea cellulare geneticamente modificata derivata dalla linea madre dell'osteosarcoma umano U-2 OS. Questa linea cellulare incorpora un inserimento mirato del tag monomero Enhanced Green Fluorescent Protein (mEGFP) nel locus del gene NUP96, ottenuto mediante la tecnologia di editing genico CRISPR-Cas9. NUP96, che fa parte del complesso del poro nucleare, è essenziale per il trasporto nucleare e la sua fusione con mEGFP consente di visualizzare in tempo reale la dinamica del poro nucleare al microscopio a fluorescenza, fornendo preziose informazioni sui meccanismi di trasporto nucleare e sul traffico nucleocitoplasmatico.

Questo clone specifico, numerato 195, è stato selezionato per l'espressione stabile della proteina di fusione NUP96-mEGFP e mantiene le caratteristiche tipiche del lignaggio U-2 OS, tra cui una robusta struttura citoscheletrica, fondamentale negli studi relativi alla migrazione e alla metastasi delle cellule tumorali. L'applicazione della tecnologia CRISPR garantisce un editing genico preciso, riducendo al minimo gli effetti fuori bersaglio che potrebbero compromettere l'integrità dei risultati sperimentali. Ciò rende il clone U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP n.195 particolarmente utile per le tecniche di imaging ad alta risoluzione e per gli studi dettagliati sull'architettura cellulare, favorendo la ricerca avanzata in biologia cellulare, la ricerca sul cancro e i fenomeni di trasporto nucleare.

**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-mEGFP clone n.195 (catalogo Cytion numero 300174)

**Cellule U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_B7FJ**Depositor** Il laboratorio Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: questa linea cellulare di osteosarcoma umano (U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP, clone 195) contiene una fusione NUP96-mEGFP ingegnerizzata con CRISPR e introdotta tramite consegna lentivirale, che consente di tracciare in modo fluorescente i complessi dei pori nucleari. La modifica è stabilmente integrata. Questa classificazione si applica solo in Germania e può variare altrove.**Dati biomolecolari****Protein expression** MEGFP (proteina 96 del complesso del poro nucleare, marcata mEGFP)**Manipolazione****Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glucosio, w: Glutamina stabile, w: 2,0 mM Sodio piruvato, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (articolo Cytion numero 820200a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con 10% FBS, 1% NEAA**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, rispendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Split ratio** Si raccomanda un rapporto di 1:2 ogni 2 o 3 giorni. Può essere conservato fino a 1 giorno dopo la confluenza**Seeding density** Da 2 a 3 x 10<sup>4</sup> cellule/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana

**Cellule U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174****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.

**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%<sub>CO2</sub>, 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.

## Cellule U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

### 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.

### 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

**PEZ6:** CLS-354