

Células U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448**Informações gerais****Description**

A U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo é uma linha celular geneticamente modificada derivada das células U-2 OS do osteossarcoma humano. Esta linha celular foi modificada utilizando a tecnologia CRISPR-Cas9 para incorporar um HaloTag no locus do gene NUP96. O NUP96, parte do complexo do poro nuclear, desempenha um papel crítico no transporte nuclear e na regulação celular. A introdução do HaloTag permite a visualização precisa e a caracterização bioquímica da dinâmica e das interações do NUP96 no interior da célula.

Ao facilitar a ligação covalente de ligandos fluorescentes ou outras sondas, o HaloTag permite a obtenção de imagens em tempo real e fornece uma ferramenta poderosa para estudar os mecanismos de transporte nuclear em células vivas. Este clone em particular, o número 252, foi selecionado pela sua expressão estável do HaloTagged NUP96, assegurando um desempenho consistente nas configurações experimentais. Esta característica torna-o altamente adequado para técnicas de imagiologia de alta resolução e estudos de interação molecular, apoiando assim a investigação avançada em biologia celular, particularmente no contexto da função nuclear e da regulação genética.

Organism

Humano

Tissue

Osso

Disease

Osteossarcoma

Caraterísticas**Age**

15 anos

Gender

Feminino

Ethnicity

Caucasiano

Morphology

De tipo epitelial

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares**Citation**

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

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

Células U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448**CellosaurusAccession** CVCL_B7FI**Depositor** O Laboratório Ellenberg (EMBL)

GMO Status GMO-S1: Esta linha celular de osteossarcoma humano (U2OS-CRISPR-NUP96-Halo, clone 252) contém uma fusão NUP96-Halo editada por CRISPR, gerada por entrega lentiviral, que permite a marcação fluorescente de complexos de poros nucleares. A modificação está integrada de forma estável. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares

Protein expression NUP96-Halo (proteína endógena do complexo de poro nuclear 96, marcada com Halo)

Manuseamento

Culture Medium McCoys 5a, com: 3,0 g/L de glucose, com: glutamina estável, com: 2,0 mM de piruvato de sódio, com: 2,2 g/L de NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820200a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Seeding density 1×10^4 células/cm²

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO₂, atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

**Freezing
Procedure**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células U2OS-CRISPR-NUP96-Halo | 300448**Shipping
Conditions**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

**Storage
Conditions**

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular**Sterility**

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

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