

Células U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444**Informações gerais****Description**

A U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP é uma linha celular de osteossarcoma geneticamente modificada derivada da linha celular humana U-2 OS. Esta linha celular foi modificada através da edição do genoma mediada por CRISPR/Cas9 para incorporar um marcador SNAP no gene NUP96, permitindo a visualização e o estudo da dinâmica do complexo de poros nucleares. Os complexos de poros nucleares (NPCs) são cruciais para a regulação do transporte nucleocitoplasmático, e o NUP96 é um componente significativo do NPC, desempenhando um papel fundamental na sua integridade estrutural e função.

No clone U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP n.º 33, a integração do SNAP-tag no locus NUP96 permite a ligação específica e covalente de substratos fluorescentes ou outras sondas químicas que podem ser utilizadas para imagiologia de células vivas e outros ensaios bioquímicos. Esta característica torna-a uma ferramenta inestimável para a investigação da dinâmica molecular do transporte nucleocitoplasmático, para a compreensão das patologias relacionadas com as NPC e para o rastreio de compostos terapêuticos que afectam a função das NPC. A linha celular também mantém as características da linha parental U-2 OS, o que inclui um elevado nível de estabilidade genética e facilidade de cultura, tornando-a adequada para o rastreio de elevado rendimento e estudos alargados em biologia celular.

Devido à especificidade da modificação no gene NUP96, o clone U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP n.º 33 constitui um modelo único para o estudo pormenorizado dos componentes do NPC no contexto da função e disfunção celular. Os investigadores podem explorar o sistema SNAP-tag para marcar selectiva e rapidamente o NUP96, facilitando a visualização em tempo real da dinâmica do NPC em condições fisiológicas e patológicas. Este clone específico pode servir como uma plataforma robusta tanto para a investigação básica como para estudos biomédicos aplicados, contribuindo significativamente para os domínios da biologia celular, genética e oncologia.

Organism Humano**Tissue** Osso**Disease** Osteossarcoma**Caraterísticas****Age** 15 anos**Gender** Feminino**Ethnicity** Caucasiano**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares**

Células U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (número de catálogo 300444 da Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FL
Depositor	O Laboratório Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Esta linha celular de osteossarcoma humano (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, clone 33) contém uma fusão NUP96-SNAP com engenharia CRISPR que facilita a marcação química de poros nucleares com SNAP-tag. A modificação está integrada de forma estável. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares

Protein expression	NUP96-SNAP (proteína 96 do complexo do poro nuclear, SNAP-tag)
---------------------------	--

Manuseamento

Culture Medium	McCoy's 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 NaHCO ₃ (número de artigo Cytion 820200a)
Supplements	Suplementar o meio com 10% de FBS, 3,0 g/L de glucose, glutamina estável, 2,0 mM de piruvato de sódio, 2,2 g/L de NaHCO ₃ , 1% de NEAA
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 x 10 ⁴ células/cm ²
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana

Células U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

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.

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% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Células U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

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.

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 / Perfil genético / HLA

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.