# U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo

300448

## INFORMAÇÕES GERAIS

**Descrição**

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 caraterização 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 caraterística 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.

| | |
|---|---|
| **Tecido** | Osso |
| **Doença** | Osteossarcoma |

## CLASSIFICAÇÃO

| | |
|---|---|
| **Organismo** | Humano |
| **Sexo** | Feminino |
| **Propriedades de crescimento** | Aderente |
| **Estatuto em matéria de OGM** | GMO-S1 |

**Detalhes sobre o estatuto dos OGM**

GMO-S1: This human osteosarcoma cell line (U2OS-CRISPR-NUP96-Halo, clone 252) contains a CRISPR-edited NUP96-Halo fusion generated via lentiviral delivery, enabling fluorescent labeling of nuclear pore complexes. The modification is stably integrated. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

| | |
|---|---|
| **Nível de biossegurança** | 1 |

## CARACTERÍSTICAS

| | |
|---|---|
| **Morfologia** | De tipo epitelial |

## IDENTIFICADORES

**Referência**

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

| | |
|---|---|
| **Número de identificação fiscal do NCBI** | 9606 |
| **Cellosaurus** | CVCL_B7FI |
| **Depositante** | O Laboratório Ellenberg (EMBL) |

## EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

**Expressão proteica**

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

## MANUSEAMENTO E CULTURA

**Meio de cultura**

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)

| | |
|---|---|
| **Atmosfera de incubação** | 37°C, 5%CO2, atmosfera humidificada. |

**Suplementos**

Completar o meio com 10% de FBS

| | |
|---|---|
| **Reagente de dissociação** | Accutase |

**Subcultura**

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.

| | |
|---|---|
| **Densidade de sementeira** | 1 x $10^4$ células/$cm^2$ |
| **Renovação de fluidos** | 2 a 3 vezes por semana |

**Descongelamento e cultura**

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

## CONTROLO DE QUALIDADE E CRIOPRESERVAÇÃO

**Esterilidade**

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 inspecções visuais diárias.

| | |
|---|---|
| **Meio de congelação** | 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 optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio. |

**Condições de armazenamento**

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.

**Condições de envio**

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.

## DOADOR

| | |
|---|---|
| **Idade do dador** | 15 anos |
| **Etnia** | Caucasiano |

## ASPECTOS LEGAIS E DE SEGURANÇA

**Precauções de segurança**

Quando se planeia armazenar um criovial em nitrogénio líquido para descongelação futura, é obrigatório aderir a medidas de segurança rigorosas. Luvas e vestuário de proteção adequados são essenciais, e a utilização de uma máscara facial ou óculos de segurança é necessária durante a transferência de amostras congeladas para ou do tanque de nitrogénio líquido. Isto destina-se a mitigar o risco de ferimentos provocados por potenciais explosões de crioviais após a remoção, que podem resultar na projeção de fragmentos afiados.

**Garantia**

Na Cytion, nós garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células serão viáveis no início da cultura por 60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no Certificado de Análise e/ou Folha de Produto
Para mais informações, consulte a nossa <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Declaração de Garantia

| | |
|---|---|
| **Aplicam-se os acordos com terceiros** | Yes |