U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple

300461

GENERAL INFORMATION

Description

La U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple es una línea celular de osteosarcoma modificada genéticamente, derivada de la línea celular humana U-2 OS, conocida por sus características de crecimiento robusto y su utilidad en diversos estudios biológicos. Este clon en particular ha sido modificado mediante la tecnología de edición genética CRISPR/Cas9 para incorporar mMaple, una proteína fluorescente fotoconvertible, al gen NUP96. La proteína mMaple permite el uso de técnicas avanzadas de imagen, como la visualización de células vivas y la microscopía de superresolución, lo que brinda información dinámica sobre el comportamiento del complejo de poros nucleares (NPC) y los mecanismos de importación y exportación celular a través de la envoltura nuclear.
El gen NUP96, que codifica un componente crucial del NPC, es vital para el transporte nucleocitoplasmático. La alteración de NUP96 puede afectar no solo a los mecanismos de transporte, sino también a la arquitectura y función nuclear en general. Por lo tanto, esta línea celular sirve como un excelente modelo para estudiar patologías relacionadas con el NPC y el papel del transporte nuclear en el metabolismo y la señalización celular. La integración de mMaple en NUP96 permite el seguimiento y la visualización en tiempo real de la dinámica de NUP96 in vivo, lo que lo convierte en una herramienta indispensable para los investigadores dedicados a los estudios del núcleo celular y para aquellos que exploran las implicaciones de las disfunciones del NPC en enfermedades como el cáncer y las infecciones virales.
Como herramienta especializada, el clon n.º 16 de U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple permite la obtención de imágenes de alta resolución y proporciona datos sustanciales sobre la distribución espacial y temporal de los componentes del NPC. Es particularmente valioso para experimentos que requieren un análisis detallado de la expresión génica, la localización de proteínas y el transporte nuclear en condiciones fisiológicas y patológicas, lo que facilita una comprensión más profunda de los procesos celulares a nivel molecular.

Tissue	Hueso
Disease	Osteosarcoma

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

GMO-S1: This human osteosarcoma cell line (U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple, clone 16) contains a CRISPR-mediated NUP96-mMaple fusion enabling photoconvertible labeling of nuclear pore structures. The construct is stably present. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Biosafety level	1

IDENTIFIERS

Citation

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (número de catálogo de Cytion 300461)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FK
Depositor	El Laboratorio Ellenberg (EMBL)

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

NUP96-mMaple (proteína 96 del complejo de poros nucleares endógeno, marcada con mMaple)

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

McCoys 5a, p: 3,0 g/L de glucosa, p: glutamina estable, p: 2,0 mM de piruvato de sodio, p: 2,2 g/L de $NaHCO_3$ (número de artículo de Cytion 820200a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmósfera humidificada.

Supplements

Añade al medio un 10 % de FBS y un 1 % de NEAA

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspendarlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfiéralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.

Seeding density	1 x 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	De 2 a 3 veces por semana

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.
Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

Freeze medium	Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Storage conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre −150 y −196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a −80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Shipping conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente −78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

DONOR

Donor age	15 años
Ethnicity	caucásico

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Cuando se planea almacenar un criovial en nitrógeno líquido para su descongelación futura, es obligatorio cumplir con estrictas medidas de seguridad. Es esencial contar con guantes y ropa de protección adecuados, y se requiere el uso de una mascarilla o lentes de seguridad durante la transferencia de muestras congeladas hacia o desde el tanque de nitrógeno líquido. Esto tiene como objetivo mitigar el riesgo de lesiones por posibles explosiones de los criotubos al retirarlos, lo que puede provocar la proyección de fragmentos afilados.

Warranty

En Cytion, respaldamos la calidad y la viabilidad de nuestros productos.
Garantizamos que nuestras células serán viables al inicio del cultivo durante
60 días a partir de la fecha de envío desde nuestras instalaciones.
Aseguramos que todos los materiales cumplen con las especificaciones descritas en el
Certificado de Análisis y/o la Ficha del Producto.
Para obtener más detalles, consulte nuestra
Declaración de garantía.

Third-party agreements apply	Yes