

Cellules U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294**Informations générales****Description**

La lignée cellulaire U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 représente une variante spécialisée de la lignée cellulaire d'ostéosarcome humain U-2 OS, largement utilisée. Ce modèle particulier a été conçu pour exprimer la version marquée SNAP de la nucléoporine Nup107, un composant central du complexe du pore nucléaire, qui est essentiel pour le transport de molécules entre le noyau et le cytoplasme. L'intégration de la technologie SNAP-tag permet le marquage biorthogonal et la visualisation de Nup107 dans des cellules vivantes ou fixées, ce qui constitue un outil puissant pour étudier le transport nucléocytoplasmique et l'architecture du pore nucléaire dans des conditions physiologiques.

Le fond U-2 OS offre plusieurs avantages, notamment des taux de croissance robustes et un caryotype bien caractérisé, qui permettent des applications de criblage à haut débit et des études génomiques. La technologie ZFN (Zinc Finger Nuclease) utilisée dans cette lignée cellulaire facilite l'édition ciblée du génome, améliorant la précision avec laquelle les chercheurs peuvent étudier les contributions génétiques au transport nucléaire et à d'autres processus cellulaires. Cette lignée cellulaire est particulièrement utile pour les études visant à élucider la dynamique et la régulation des complexes du pore nucléaire dans la biologie du cancer et la physiologie cellulaire.

En raison de la nature spécialisée de la lignée cellulaire U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 no.294, elle convient parfaitement aux techniques d'imagerie avancées, y compris la microscopie à super-résolution, pour explorer les fonctions des nucléoporines à un niveau de détail sans précédent. Elle constitue également une ressource précieuse pour le développement de stratégies thérapeutiques ciblant les voies de transport nucléaire impliquées dans diverses maladies, y compris le cancer. Le composant SNAP-tag ajoute de la polyvalence pour d'autres analyses biochimiques et protéomiques, ce qui en fait un outil indispensable dans le domaine de la biologie cellulaire et moléculaire.

Organism Humain**Tissue** Os**Disease** Ostéosarcome**Caractéristiques****Age** 15 ans**Gender** Femme**Ethnicity** Caucasien**Growth properties** Adhérent**Données réglementaires**

Cellules U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Citation	U-2 OS-ZFN-SNAP-Nup107 (numéro de catalogue Cytion 300294)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_B7FM
-----------------------------	-----------

Depositor	Le laboratoire Ellenberg (EMBL)
------------------	---------------------------------

GMO Status	OGM-S1 : Cette lignée cellulaire humaine d'ostéosarcome (U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 no.294) contient une fusion de gènes SNAP-Nup107 médiée par ZFN, permettant le marquage sélectif de la sous-unité du pore nucléaire Nup107. La modification est présente de façon stable. Cette classification ne s'applique qu'à l'Allemagne et peut différer dans d'autres pays.
-------------------	--

Données biomoléculaires

Protein expression	SNAP-Nup107 (protéine 107 du complexe du pore nucléaire, SNAP-tag)
---------------------------	--

Manipulation

Culture Medium	McCoy's 5a, w : 3.0 g/L Glucose, w : Glutamine stable, w : 2.0 mM Pyruvate de sodium, w : 2.2 g/L NaHCO ₃ (numéro d'article Cytion 820200a)
-----------------------	--

Supplements	Compléter le milieu avec 10 % de FBS, 3,0 g/L de glucose, de la glutamine stable, 2,0 mM de pyruvate de sodium, 2,2 g/L de NaHCO ₃ , 1 % de NEAA
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
---------------------	--

Split ratio	Un rapport de 1:3 à 1:6 est recommandé
--------------------	--

Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
----------------------	------------------------

Cellules U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Cellules U2OS-ZFN-SNAP-Nup107 | 300294

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Profil STR

Amelogenin: x,y
PEZ6: NB-4