Product sheet

Cellules U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Informations générales

Description	La lignée cellulaire U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP est une lignée cellulaire d'ostéosarcome génétiquement modifiée, dérivée de la lignée cellulaire humaine U-2 OS parentale. Cette lignée cellulaire a été modifiée par édition du génome à l'aide de CRISPR/Cas9 afin d'incorporer une étiquette SNAP au niveau du gène NUP96, ce qui permet de visualiser et d'étudier la dynamique du complexe du pore nucléaire. Les complexes du pore nucléaire (CPN) sont essentiels à la régulation du transport nucléocytoplasmique, et NUP96 est un composant important du CPN, jouant un rôle central dans son intégrité structurelle et sa fonction. Dans le clone U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP n° 33, l'intégration de l'étiquette SNAP au locus NUP96 permet la fixation spécifique et covalente de substrats fluorescents ou d'autres sondes chimiques qui peuvent être utilisés pour l'imagerie des cellules vivantes et d'autres essais biochimiques. Cette caractéristique en fait un outil précieux pour l'étude de la dynamique moléculaire du transport nucléocytoplasmique, la compréhension des pathologies liées aux CPN et le criblage de composés thérapeutiques affectant la fonction des CPN. La lignée cellulaire conserve également les caractéristiques de la lignée cellulaire parentale U-2 OS, notamment un haut niveau de stabilité génétique et une grande facilité de culture, ce qui la rend adaptée au criblage à haut débit et aux études approfondies en biologie cellulaire. En raison de la spécificité de la modification au niveau du gène NUP96, le clone U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP no.33 constitue un modèle unique pour l'étude détaillée des composants du NPC dans le contexte de la fonction et du dysfonctionnement cellulaires. Les chercheurs peuvent exploiter le système SNAP-tag pour marquer sélectivement et rapidement NUP96, facilitant ainsi la visualisation en temps réel de la dynamique du NPC dans des conditions physiologiques et pathologiques. Ce clone spécifique peut servir de plateforme robuste pour la recherche fondamentale et les études biomédicales appliquées, contribuant de manière significative aux domaines de la biologie cellulaire, de la génétique et de l'oncologie.
Organism	Humain
Tissue	Os
Disease	Ostéosarcome

Caractéristiques

Age	15 ans
Gender	Femme
Ethnicity	Caucasien
Growth properties	Adhérent

Données réglementaires

Cellules U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (numéro de catalogue Cytion 300444)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FL
Depositor	Le laboratoire Ellenberg (EMBL)
GMO Status	OGM-S1 : Cette lignée cellulaire humaine d'ostéosarcome (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, clone 33) contient une fusion NUP96-SNAP modifiée par CRISPR qui facilite le marquage chimique des pores nucléaires par les marqueurs SNAP. La modification est intégrée de manière stable. Cette classification ne s'applique qu'à l'Allemagne et peut différer dans d'autres pays.

Données biomoléculaires

Protein expression	NUP96-SNAP (protéine 96 du complexe du pore nucléaire, SNAP-tag)

Manipulation

Culture Medium	McCoys 5a, w : 3.0 g/L Glucose, w : Glutamine stable, w : 2.0 mM Pyruvate de sodium, w : 2.2 g/L NaHCO3 (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 NaHCO3, 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 1:4 à 1:6 est recommandé
Seeding density	1×10^4 cellules/cm^2

Cellules U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
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-CRISPR-NUP96-SNAP | 300444

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 de qualité / Profil génétique / HLA

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