

Cellules U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

Informations générales

Description

La lignée cellulaire U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP est une lignée cellulaire génétiquement modifiée dérivée de la lignée parentale d'ostéosarcome humain U-2 OS. Cette lignée cellulaire intègre une insertion ciblée de la protéine fluorescente verte améliorée monomérique (mEGFP) au locus du gène NUP96, réalisée grâce à la technologie d'édition de gènes CRISPR-Cas9. NUP96, qui fait partie du complexe du pore nucléaire, est essentiel pour le transport nucléaire, et sa fusion avec mEGFP permet de visualiser en temps réel la dynamique du pore nucléaire par microscopie à fluorescence, ce qui fournit des informations précieuses sur les mécanismes de transport nucléaire et le trafic nucléocytoplasmique.

Ce clone spécifique, numéroté 195, a été sélectionné pour son expression stable de la protéine de fusion NUP96-mEGFP et conserve les caractéristiques typiques de la lignée U-2 OS, y compris une structure cytosquelettique robuste qui est essentielle dans les études liées à la migration des cellules cancéreuses et aux métastases. L'application de la technologie CRISPR garantit une édition précise des gènes, minimisant les effets hors cible qui pourraient compromettre l'intégrité des résultats expérimentaux. Le clone U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP n° 195 est donc particulièrement utile pour les techniques d'imagerie à haute résolution et les études détaillées de l'architecture cellulaire, contribuant ainsi à la recherche avancée en biologie cellulaire, en cancérologie et sur les phénomènes de transport nucléaire.

Organism Humain

Tissue Os

Disease Ostéosarcome

Caractéristiques

Age 15 ans

Gender Femme

Ethnicity Caucasien

Morphology De type épithélial

Growth properties Adhérent

Données réglementaires

Citation U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP clone no.195 (numéro de catalogue Cytion 300174)

Cellules U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FJ**Depositor** Le laboratoire Ellenberg (EMBL)**GMO Status** OGM-S1 : Cette lignée cellulaire humaine d'ostéosarcome (U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP, clone 195) contient une fusion NUP96-mEGFP modifiée par CRISPR et introduite par livraison lentivirale, permettant le suivi fluorescent des complexes du pore nucléaire. 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** MEGFP (protéine 96 du complexe du pore nucléaire, étiquetée MEGFP)**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, 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 1:2 tous les 2 à 3 jours est recommandé. Peut être conservé jusqu'à 1 jour après confluence**Seeding density** 2 à 3 x 10⁴ cellules/cm²**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine

Cellules U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

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 cryogénéisation.

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% CO_2 , atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Cellules U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

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

PEZ6: CLS-354