# U-2 OS-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.

| | |
|---|---|
| **Tissu** | Os |
| **Maladie** | Ostéosarcome |

## CLASSIFICATION

| | |
|---|---|
| **Organisme** | Humain |
| **Sexe** | Femme |
| **Propriétés de croissance** | Adepte |
| **Statut OGM** | GMO-S1 |

### Informations détaillées sur le statut OGM

GMO-S1: This human osteosarcoma cell line (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, clone 33) contains a CRISPR-engineered NUP96-SNAP fusion facilitating SNAP-tag chemical labeling of nuclear pores. The modification is stably integrated. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

| | |
|---|---|
| **Niveau de biosécurité** | 1 |

## IDENTIFIANTS

### Référence

U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (numéro de catalogue Cytion 300444)

| | |
|---|---|
| **Numéro d'identification fiscale NCBI** | 9606 |
| **Cellosaurus** | CVCL_B7FL |

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

| | |
|---|---|
| **Déposant** | Le laboratoire Ellenberg (EMBL) |

## EXPRESSION ET SENSIBILITÉ

**Expression des protéines**

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

## MANIPULATION ET CULTURE

**Milieu de culture**

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)

| | |
|---|---|
| **Atmosphère d'incubation** | 37°C, 5%CO2, atmosphère humidifiée. |

**Compléments alimentaires**

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

| | |
|---|---|
| **Réactif de dissociation** | Accutase |

**Repiquage**

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.

| | |
|---|---|
| **Densité de semis** | 1 x $10^4$ cellules/$cm^2$ |
| **Renouvellement des fluides** | 2 à 3 fois par semaine |

**Décongélation et mise en culture**

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.

## CONTRÔLE QUALITÉ ET CRYOCONSERVATION

**Stérilité**

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.

| | |
|---|---|
| **Milieu de congélation** | 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. |

**Conditions de stockage**

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.

**Conditions de livraison**

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.

## DONATEUR

| | |
|---|---|
| **Âge du donneur** | 15 ans |
| **Origine ethnique** | Caucasien |

## ASPECTS JURIDIQUES ET SÉCURITÉ

**Consignes de sécurité**

Lorsque l'on envisage de stocker un cryovial dans l'azote liquide en vue d'une décongélation ultérieure, il est obligatoire de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Des gants et des vêtements de protection appropriés sont indispensables, et l'utilisation d'un masque facial ou de lunettes de sécurité est requise pendant le transfert des échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d'azote liquide. Ceci afin de réduire le risque de blessures dues à l'explosion potentielle des cryoviaux lors de leur retrait, qui peut entraîner la projection de fragments tranchants.

**Garantie**

Chez Cytion, nous nous portons garants de la qualité et de la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant 60 jours après l'expédition de nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le certificat d'analyse et/ou la fiche produit
Pour plus de détails, veuillez consulter notre <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default""> Déclaration de garantie

| | |
|---|---|
| **Les accords conclus avec des tiers s'appliquent** | Yes |