# U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo

300448

## INFORMATIONS GÉNÉRALES

### Description

La lignée cellulaire U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo est une lignée cellulaire génétiquement modifiée dérivée des cellules de l'ostéosarcome humain U-2 OS. Cette lignée cellulaire a été modifiée à l'aide de la technologie CRISPR-Cas9 pour incorporer un HaloTag au locus du gène NUP96. NUP96, qui fait partie du complexe du pore nucléaire, joue un rôle essentiel dans le transport nucléaire et la régulation cellulaire. L'introduction du HaloTag permet la visualisation précise et la caractérisation biochimique de la dynamique et des interactions de NUP96 au sein de la cellule.
En facilitant la fixation covalente de ligands fluorescents ou d'autres sondes, le HaloTag permet l'imagerie en temps réel et constitue un outil puissant pour l'étude des mécanismes de transport nucléaire dans les cellules vivantes. Ce clone particulier, numéro 252, a été sélectionné pour son expression stable du HaloTagged NUP96, garantissant une performance constante dans les montages expérimentaux. Cette caractéristique le rend particulièrement adapté aux techniques d'imagerie à haute résolution et aux études d'interactions moléculaires, favorisant ainsi la recherche avancée en biologie cellulaire, en particulier dans le contexte de la fonction nucléaire et de la régulation génétique.

| | |
|---|---|
| **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-Halo, clone 252) contains a CRISPR-edited NUP96-Halo fusion generated via lentiviral delivery, enabling fluorescent labeling of nuclear pore complexes. The modification is stably integrated. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

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

## CARACTÉRISTIQUES

| | |
|---|---|
| **Morphologie** | De type épithélial |

## IDENTIFIANTS

### Référence

U-2 OS-CRISPR-NUP96-Halo (numéro de catalogue Cytion 300448)

| | |
|---|---|
| **Numéro d'identification fiscale NCBI** | 9606 |
| **Cellosaurus** | CVCL_B7FI |
| **Déposant** | Le laboratoire Ellenberg (EMBL) |

## EXPRESSION ET SENSIBILITÉ

**Expression des protéines**

NUP96-Halo (protéine 96 du complexe du pore nucléaire endogène, marquée au Halo)

## 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

| | |
|---|---|
| **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 |