U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple

300461

GENERAL INFORMATION

Description

La lignée cellulaire U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple est une lignée cellulaire d'ostéosarcome génétiquement modifiée dérivée de la lignée cellulaire humaine U-2 OS, connue pour ses caractéristiques de croissance vigoureuses et son utilité dans diverses études biologiques. Ce clone particulier a été modifié à l'aide de la technologie d'édition génétique CRISPR/Cas9 afin d'intégrer mMaple, une protéine fluorescente photoconvertible, dans le gène NUP96. La protéine mMaple permet l'utilisation de techniques d'imagerie avancées, telles que l'imagerie de cellules vivantes et la microscopie à super-résolution, offrant ainsi un aperçu dynamique du comportement du complexe des pores nucléaires (NPC) et des mécanismes d'import-export cellulaires à travers l'enveloppe nucléaire.
Le gène NUP96, qui code pour un composant essentiel du NPC, est vital pour le transport nucléocytoplasmique. Une altération de NUP96 peut affecter non seulement les mécanismes de transport, mais aussi l'architecture et la fonction nucléaires globales. Cette lignée cellulaire constitue donc un excellent modèle pour l'étude des pathologies liées au NPC et du rôle du transport nucléaire dans le métabolisme et la signalisation cellulaires. L'intégration de mMaple dans NUP96 permet le suivi et la visualisation en temps réel de la dynamique de NUP96 in vivo, ce qui en fait un outil indispensable pour les chercheurs spécialisés dans l'étude du noyau cellulaire et ceux qui explorent les implications des dysfonctionnements du NPC dans des maladies telles que le cancer et les infections virales.
En tant qu'outil spécialisé, le clone U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple n° 16 permet une imagerie à haute résolution et fournit des données substantielles concernant la distribution spatiale et temporelle des composants du NPC. Il s'avère particulièrement utile pour les expériences nécessitant une analyse détaillée de l'expression génique, de la localisation des protéines et du transport nucléaire dans des conditions physiologiques et pathologiques, facilitant ainsi une compréhension plus approfondie des processus cellulaires au niveau moléculaire.

Tissue	Os
Disease	Ostéosarcome

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

GMO-S1: This human osteosarcoma cell line (U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple, clone 16) contains a CRISPR-mediated NUP96-mMaple fusion enabling photoconvertible labeling of nuclear pore structures. The construct is stably present. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Biosafety level	1

IDENTIFIERS

Citation

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (numéro de catalogue Cytion 300461)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FK
Depositor	Le laboratoire Ellenberg (EMBL)

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

NUP96-mMaple (protéine 96 du complexe des pores nucléaires endogène, marquée par mMaple)

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

McCoys 5a, w : 3,0 g/L de glucose, w : stable; glutamine, w : 2,0 mM de pyruvate de sodium, w : 2,2 g/L de $NaHCO_3$ (référence Cytion 820200a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Supplements

Ajouter au milieu 10 % de FBS et 1 % de NEAA

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Seeding density	1×10^4 cellules/cm^2
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.
Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Storage conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l’azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L’entreposage à −80 °C n’est acceptable qu’à titre d’étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l’azote liquide.

Shipping conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d’environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

DONOR

Donor age	15 ans
Ethnicity	caucasien

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Lorsqu’on prévoit entreposer un cryotube dans de l’azote liquide en vue d’une décongélation ultérieure, il est impératif de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Le port de gants et de vêtements de protection appropriés est essentiel, et l’utilisation d’un masque facial ou de lunettes de protection est obligatoire lors du transfert d’échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d’azote liquide. Cette précaution vise à réduire le risque de blessure causé par d’éventuelles explosions de cryotubes lors de leur retrait, pouvant entraîner la projection de fragments coupants.

Warranty

Chez Cytion, nous garantissons la qualité et la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant 60 jours à compter de leur expédition depuis nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le certificat d’analyse et/ou la fiche technique du produit.
Pour plus de détails, veuillez consulter notre déclaration de garantie.

Third-party agreements apply	Yes

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