# U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2

300663

## OBECNÉ INFORMACE

### Popis

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 je genomově upravená lidská osteosarkomová buněčná linie odvozená z buněk U2OS, ve které byl endogenní lokus RANBP2 (známý také jako NUP358) modifikován pomocí CRISPR/Cas9 tak, aby kódoval značku SNAPf v rámci nativního proteinu. Nup358/RanBP2 je velký nukleoporin lokalizovaný v cytoplazmatických vláknech jaderného pórového komplexu (NPC) a hraje klíčovou roli v nukleocytoplazmatickém transportu, SUMOylaci a mitotických procesech. Endogenní značení zajišťuje, že SNAPf-Nup358 je exprimován pod fyziologickou kontrolou promotoru, čímž se udržují nativní úrovně exprese a minimalizují artefakty spojené s systémy nadměrné exprese.
Značka SNAPf je variantou značky SNAP s rychlým značením, která se kovalentně váže na substráty konjugované s benzylguaninem, což umožňuje selektivní a stabilní fluorescenční značení Nup358 v živých nebo fixovaných buňkách. V buňkách U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 se fúzní protein lokalizuje do jaderné obálky v bodovém rozložení charakteristickém pro cytoplazmatická NPC filamenta. Tato konfigurace podporuje vysoké rozlišení fluorescenčního zobrazování, superrozlišovací mikroskopii, značení pulz-chase a sledování jednotlivých molekul pro studium architektury a dynamiky NPC. Plochá morfologie a velká jádra buněk U2OS dále usnadňují kvantitativní zobrazování struktur jaderné obálky.
Tento model umožňuje zkoumání specifických rolí Nup358 v CRM1/exportin-dependentním jaderném exportu, regulaci cyklu Ran GTPázy a prostorové organizaci cytoplazmatických transportních platforem. Vzhledem k účasti Nup358 na sestavování mitotického vřetena a funkci kinetochoru je tato buněčná linie také vhodná pro studium redistribuce nukleoporinů závislé na buněčném cyklu a rozebírání/sestavování NPC během mitózy. U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 poskytuje fyziologicky relevantní platformu pro rozbor strukturálních a funkčních aspektů cytoplazmatické strany jaderného pórového komplexu v lidských buňkách.

| | |
|---|---|
| **Tkáň** | Kost |
| **Nemoc** | Osteosarkom |
| **Místo metastázy** | Místo primárního nádoru (kost) |

### Aplikace

Biologie cytoplazmatických filamentů komplexu jaderných pórů; Nup358/RanBP2 v jaderném exportu zprostředkovaném CRM1; cyklus GTPázy Ran; SUMO dráha; sestavování mitotického vřetena; sledování jednotlivých částic; mikroskopie se superrozlišením; značení metodou SNAP pulse-chase; architektura cytoplazmatické strany komplexu jaderných pórů

## KLASIFIKACE

| | |
|---|---|
| **Organismus** | Člověk |
| **Sex** | Žena |
| **Růstové vlastnosti** | Přívrženec |
| **Stav GMO** | GMO-S1 |

### Podrobnosti o statusu GMO

GMO-S1: This human osteosarcoma cell line (U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2) contains a CRISPR-engineered SNAPf-Nup358/RanBP2 fusion enabling precise labeling of nuclear pore cytoplasmic fibrils. The modification is stably integrated. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

| | |
|---|---|
| **Úroveň biologické bezpečnosti** | 1 |

## CHARAKTERISTIKA

| | |
|---|---|
| **Morfologie** | Epitelu podobné |

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

| | |
|---|---|
| **Typ buňky** | Epitelové buňky (osteosarkom) |
| **Doba zdvojnásobení** | přibližně 24 až 36 hodin |

## IDENTIFIKÁTORY

**Citace**

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 (katalogové číslo Cytion 300663)

| | |
|---|---|
| **Daňové identifikační číslo NCBI** | 9606 |
| **Cellosaurus** | Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042) |
| **Vkladatel** | Ellenbergova laboratoř (EMBL) |

## EXPRESE A NÁCHYLNOST

**Exprese proteinů**

Nup358/RanBP2, SNAPf-tag

## MANIPULACE A CHOV

**Pěstovací médium**

McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukóza, w: stabilní glutamin, w: 2,0 mM pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO3 (číslo článku Cytion 820200a)

| | |
|---|---|
| **Inkubační atmosféra** | 37 °C, 5 %CO2, zvlhčená atmosféra. |

**Doplňky stravy**

Doplňte médium o 10% FBS, 3,0 g/l glukózy, stabilní glutamin, 2,0 mM pyruvát sodný, 2,2 g/l NaHCO3, 1% NEAA

| | |
|---|---|
| **Disociační činidlo** | Accutase |

**Subkultivace**

Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

| | |
|---|---|
| **Poměr rozdělení** | 1 až 3 |
| **Hustota výsevu** | 1 až 3 × $10^4$ buněk/$cm^2$ |
| **Obnova tekutin** | 2 až 3krát týdně |

**Rozmrazování a kultivace**

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.

## KONTROLA KVALITY A KRYOKONZERVACE

### Sterilita

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

| | |
|---|---|
| **Mrazicí médium** | Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo. |

### Podmínky skladování

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

### Dopravní podmínky

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

## DÁRCE

| | |
|---|---|
| **Věk dárce** | 15 let |
| **Etnická příslušnost** | Kavkazský |

## PRÁVNÍ INFORMACE A BEZPEČNOSTNÍ POKYNY

### Bezpečnostní opatření

Při plánování uložení kryovialu v kapalném dusíku pro budoucí rozmrazení je nutné dodržovat přísná bezpečnostní opatření. Nezbytné jsou vhodné ochranné rukavice a oděv a při přenášení zmrazených vzorků do nádrže s kapalným dusíkem nebo z ní je nutné používat obličejovou masku nebo ochranné brýle. To proto, aby se snížilo riziko zranění v důsledku možných výbuchů kryovialů při jejich vyjímání, které mohou mít za následek vystřelování ostrých úlomků.

### Záruka

Ve společnosti Cytion si stojíme za kvalitou a životaschopností našich produktů.
Zaručujeme, že naše buňky budou životaschopné na začátku kultivace po dobu 60 dnů po odeslání z našich zařízení.
Zaručujeme, že všechny materiály odpovídají specifikacím popsaným v certifikátu analýzy a/nebo v produktovém listu
Úplné informace naleznete v našem <a href=""/Kdo-jsme/Záruka/"" hreflang=""x-default"">Záručním prohlášení

| | |
|---|---|
| **Platí smlouvy s třetími stranami** | Yes |