U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2

300663

GENERELLE OPLYSNINGER

Beskrivelse

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 er en genomredigeret human osteosarkomcellelinje afledt af U2OS-celler, hvor det endogene RANBP2-lokus (også kendt som NUP358) er blevet modificeret ved hjælp af CRISPR/Cas9 til at kode for et SNAPf-tag i rammen med det oprindelige protein. Nup358/RanBP2 er et stort nukleoporin, der er lokaliseret i cytoplasmatiske filamenter i det nukleare porekompleks (NPC) og spiller en afgørende rolle i nukleocytoplasmatisk transport, SUMOylering og mitotiske processer. Endogen mærkning sikrer, at SNAPf-Nup358 udtrykkes under fysiologisk promotorkontrol, hvilket opretholder native ekspressionsniveauer og minimerer artefakter forbundet med overekspressionssystemer.
SNAPf-tagget er en hurtigt mærkende variant af SNAP-tagget, der kovalent binder benzylguanin-konjugerede substrater, hvilket muliggør selektiv og stabil fluorescerende mærkning af Nup358 i levende eller fiksede celler. I U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2-celler lokaliseres fusionsproteinet til kernehinden i en punktformet fordeling, der er karakteristisk for cytoplasmatiske NPC-filamenter. Denne konfiguration understøtter højopløsningsfluorescensbilleddannelse, superopløsningsmikroskopi, puls-chase-mærkning og enkeltmolekylsporing til at studere NPC-arkitektur og -dynamik. Den flade morfologi og de store kerner i U2OS-celler letter yderligere kvantitativ billeddannelse af kernemembranstrukturer.
Denne model muliggør undersøgelse af Nup358-specifikke roller i CRM1/exportin-afhængig nuklear eksport, Ran GTPase-cyklusregulering og den rumlige organisering af cytoplasmatiske transportplatforme. I betragtning af Nup358's involvering i mitotisk spindelmontering og kinetokorfunktion er cellelinjen også velegnet til at studere cellecyklusafhængig omfordeling af nukleoporiner og NPC-demontering/genmontering under mitose. U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 udgør en fysiologisk relevant platform til at analysere strukturelle og funktionelle aspekter af den cytoplasmatiske side af kerneporekomplekset i humane celler.

Væv	Knogle
Sygdom	Osteosarkom
Metastasested	Primær tumorlokalisation (knogle)

Anvendelser

Biologi vedrørende cytoplasmatiske filamenter i kerneporekomplekset; Nup358/RanBP2 i CRM1-medieret eksport fra kernen; Ran-GTPase-cyklus; SUMO-signalvejen; samling af mitotisk spindel; sporing af enkeltpartikler; superopløsningsmikroskopi; SNAP-pulse-chase-mærkning; arkitekturen på den cytoplasmatiske side af NPC'et

KLASSIFICERING

Organisme	Menneske
Køn	Kvinde
Vækstegenskaber	Tilhænger
GMO-status	GMO-S1

Oplysninger om GMO-status

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.

Biosikkerhedsniveau	1

EGENSKABER

Morfologi	Epitel-lignende

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

Celletype	Epithelceller (osteosarkom)
Fordoblingstid	ca. 24 til 36 timer

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 (Cytion katalognummer 300663)

NCBI-skattenummer	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Indskyder	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

UDTRYK OG MODTAGELIGHED

Proteinekspression

Nup358/RanBP2, SNAPf-tag

HÅNDTERING OG OPDRÆT

Næringsmedium

McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glukose, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820200a)

Inkubationsatmosfære	37°C, 5%CO2, befugtet atmosfære.

Kosttilskud

Suppler mediet med 10 % FBS, 3,0 g/L glukose, stabil glutamin, 2,0 mM natriumpyruvat, 2,2 g/L NaHCO3, 1 % NEAA

Dissociationsreagens	Accutase

Oddyrkning

Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Opdelingsforhold	1 til 3
Såtæthed	1 til 3 × 10^4 celler/cm^2
Væskeudskiftning	2 til 3 gange om ugen

Optøning og dyrkning

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.

KVALITETSKONTROL OG KRYOPRÆSERVERING

Sterilitet

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

Frysemedium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Opbevaringsbetingelser

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Leveringsbetingelser

Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

DONOR

Donorens alder	15 år
Etnisk tilhørsforhold	Kaukasisk

JURIDISKE FORHOLD OG SIKKERHED

Sikkerhedsforanstaltninger

Når man planlægger at opbevare et kryovæske i flydende nitrogen med henblik på fremtidig optøning, er det obligatorisk at overholde strenge sikkerhedsforanstaltninger. Passende beskyttelseshandsker og -tøj er afgørende, og der skal bruges ansigtsmaske eller sikkerhedsbriller under overførslen af frosne prøver til eller fra tanken med flydende nitrogen. Dette er for at mindske risikoen for skader fra potentielle kryovæskeeksplosioner ved fjernelse, som kan resultere i projektion af skarpe fragmenter.

Garanti

Hos Cytion står vi inde for vores produkters kvalitet og levedygtighed.
Vi garanterer, at vores celler vil være levedygtige ved kulturens start i 60 dage efter afsendelse fra vores faciliteter.
Vi sikrer, at alle materialer er i overensstemmelse med de specifikationer, der er beskrevet i analysecertifikatet og/eller produktarket
For alle detaljer henvises til vores <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Der gælder aftaler med tredjeparter	Yes