U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2

300663

ALLGEMEINE INFORMATIONEN

Beschreibung

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 ist eine genomeditierte humane Osteosarkom-Zelllinie, die aus U2OS-Zellen gewonnen wurde, in denen der endogene RANBP2-Locus (auch bekannt als NUP358) durch CRISPR/Cas9 modifiziert wurde, um ein SNAPf-Tag in Frame mit dem nativen Protein zu kodieren. Nup358/RanBP2 ist ein großes Nukleoporin, das in den zytoplasmatischen Filamenten des Kernporenkomplexes (NPC) lokalisiert ist und eine wichtige Rolle beim nukleozytoplasmatischen Transport, der SUMOylierung und mitotischen Prozessen spielt. Die endogene Markierung stellt sicher, dass SNAPf-Nup358 unter physiologischer Promotorkontrolle exprimiert wird, wodurch die nativen Expressionsniveaus aufrechterhalten und Artefakte im Zusammenhang mit Überexpressionssystemen minimiert werden.
Das SNAPf-Tag ist eine schnell markierende Variante des SNAP-Tags, das kovalent an Benzylguanin-konjugierte Substrate bindet und eine selektive und stabile Fluoreszenzmarkierung von Nup358 in lebenden oder fixierten Zellen ermöglicht. In U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2-Zellen lokalisiert sich das Fusionsprotein in einer punktförmigen Verteilung, die für zytoplasmatische NPC-Filamente charakteristisch ist, an der Kernhülle. Diese Konfiguration unterstützt hochauflösende Fluoreszenzbildgebung, Superauflösungsmikroskopie, Pulse-Chase-Markierung und Einzelmolekül-Tracking-Ansätze zur Untersuchung der NPC-Architektur und -Dynamik. Die flache Morphologie und die großen Kerne der U2OS-Zellen erleichtern zusätzlich die quantitative Bildgebung von Kernhüllenstrukturen.
Dieses Modell ermöglicht die Untersuchung der spezifischen Rollen von Nup358 beim CRM1/Exportin-abhängigen Kern-Export, der Ran-GTPase-Zyklusregulation und der räumlichen Organisation zytoplasmatischer Transportplattformen. Angesichts der Beteiligung von Nup358 am Aufbau der Mitosespindel und der Kinetochor-Funktion eignet sich die Zelllinie auch für die Untersuchung der zellzyklusabhängigen Umverteilung von Nukleoporinen und der NPC-Demontage/Remontage während der Mitose. U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 bietet eine physiologisch relevante Plattform für die Analyse struktureller und funktioneller Aspekte der zytoplasmatischen Seite des Kernporenkomplexes in menschlichen Zellen.

Gewebe	Knochen
Krankheit	Osteosarkom
Metastasenherd	Primärtumorlokalisation (Knochen)

Anwendungen

Biologie der zytoplasmatischen Filamente des Kernporenkomplexes; Nup358/RanBP2 beim CRM1-vermittelten Kernexport; Ran-GTPase-Zyklus; SUMO-Signalweg; Aufbau der Mitosespindel; Einzelpartikel-Tracking; Superauflösungsmikroskopie; SNAP-Pulse-Chase-Markierung; Architektur der zytoplasmatischen Seite des Kernporenkomplexes

KLASSIFIZIERUNG

Organismus	Mensch
Sex	Weiblich
Wachstumseigenschaften	Anhänger
GVO-Status	GMO-S1

Angaben zum GVO-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.

Biologische Sicherheitsstufe	1

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

MERKMALE

Morphologie	Epithelähnlich
Zelltyp	Epithelzellen (Osteosarkom)
Verdopplungszeit	ca. 24 bis 36 Stunden

BEZEICHNER

Quellenangabe

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

NCBI-Steuer-ID	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Einleger	Das Ellenberg-Labor (EMBL)

EXPRESSION UND ANFÄLLIGKEIT

Proteinexpression

Nup358/RanBP2, SNAPf-Tag

HANDHABUNG UND KULTUR

Nährmedium

McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glucose, w: stabiles Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO3 (Cytion-Artikelnummer 820200a)

Inkubationsatmosphäre	37°C, 5%CO2, befeuchtete Atmosphäre.

Nahrungsergänzungsmittel

Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS, 3,0 g/L Glucose, stabilem Glutamin, 2,0 mM Natriumpyruvat, 2,2 g/L NaHCO3, 1% NEAA

Dissoziationsreagenz	Accutase

Subkultivierung

Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Split-Verhältnis	1 bis 3
Aussaatdichte	1 bis 3 × 10^4 Zellen/cm^2
Flüssigkeitswechsel	2 bis 3 Mal pro Woche

Auftauen und Kultivierung

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.

QUALITÄTSKONTROLLE UND KRYOKONSERVIERUNG

Sterilität

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.
Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

Gefriermedium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Lagerbedingungen

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Versandbedingungen

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

SPENDER

Alter des Spenders	15 Jahre
Ethnische Zugehörigkeit	Kaukasisch

RECHTLICHES UND SICHERHEIT

Sicherheitshinweise

Wenn Sie planen, ein Kryovial in flüssigem Stickstoff zu lagern, um es später aufzutauen, müssen Sie strenge Sicherheitsmaßnahmen einhalten. Geeignete Schutzhandschuhe und -kleidung sind unerlässlich, und beim Transfer der gefrorenen Proben in den oder aus dem Flüssigstickstofftank ist das Tragen einer Gesichtsmaske oder einer Schutzbrille erforderlich. Damit soll die Verletzungsgefahr durch mögliche Explosionen der Kryovials bei der Entnahme, die zum Herausschleudern von scharfen Fragmenten führen können, verringert werden.

Garantie

Bei Cytion stehen wir hinter der Qualität und Lebensfähigkeit unserer Produkte.
Wir garantieren, dass unsere Zellen zu Beginn der Kultur für 60 Tage nach dem Versand aus unseren Einrichtungen lebensfähig sind.
Wir versichern, dass alle Materialien mit den im Analysezertifikat und/oder Produktblatt beschriebenen Spezifikationen übereinstimmen
Ausführliche Informationen finden Sie in unserer <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantieerklärung

Es gelten Vereinbarungen mit Dritten	Yes