U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2

300663

INFORMACIÓN GENERAL

Descripción

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 es una línea celular de osteosarcoma humano editada genómicamente derivada de células U2OS en la que el locus endógeno RANBP2 (también conocido como NUP358) ha sido modificado por CRISPR/Cas9 para codificar una etiqueta SNAPf en marco con la proteína nativa. Nup358/RanBP2 es una nucleoporina grande localizada en los filamentos citoplasmáticos del complejo de poros nucleares (NPC) y desempeña un papel fundamental en el transporte nucleocitoplasmático, la SUMOilación y los procesos mitóticos. El etiquetado endógeno garantiza que SNAPf-Nup358 se exprese bajo el control fisiológico del promotor, manteniendo los niveles de expresión nativos y minimizando los artefactos asociados a los sistemas de sobreexpresión.
La etiqueta SNAPf es una variante de etiquetado rápido de la etiqueta SNAP que se une covalentemente a sustratos conjugados con bencilguanina, lo que permite el etiquetado fluorescente selectivo y estable de Nup358 en células vivas o fijadas. En las células U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2, la proteína de fusión se localiza en la envoltura nuclear con una distribución punteada característica de los filamentos NPC citoplasmáticos. Esta configuración permite realizar imágenes de fluorescencia de alta resolución, microscopía de superresolución, etiquetado pulse-chase y seguimiento de moléculas individuales para estudiar la arquitectura y la dinámica de los NPC. La morfología plana y los núcleos grandes de las células U2OS facilitan aún más la obtención de imágenes cuantitativas de las estructuras de la envoltura nuclear.
Este modelo permite investigar las funciones específicas de Nup358 en la exportación nuclear dependiente de CRM1/exportina, la regulación del ciclo de la GTPasa Ran y la organización espacial de las plataformas de transporte citoplasmático. Dada la participación de Nup358 en el ensamblaje del huso mitótico y la función del cinetocoro, la línea celular también es adecuada para estudiar la redistribución dependiente del ciclo celular de las nucleoporinas y el desensamblaje/reensamblaje del NPC durante la mitosis. U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 proporciona una plataforma fisiológicamente relevante para diseccionar los aspectos estructurales y funcionales de la cara citoplasmática del complejo de poros nucleares en las células humanas.

Pañuelo de papel	Hueso
Enfermedad	Osteosarcoma
Lugar de metástasis	Localización del tumor primario (hueso)

Aplicaciones

Biología de los filamentos citoplasmáticos del complejo de poros nucleares; Nup358/RanBP2 en la exportación nuclear mediada por CRM1; ciclo de la GTPasa Ran; vía SUMO; ensamblaje del huso mitótico; seguimiento de partículas individuales; microscopía de superresolución; marcaje SNAP por pulso-persecución; arquitectura de la cara citoplasmática del NPC

CLASIFICACIÓN

Organismo	Humano
Sexo	Mujer
Propiedades de crecimiento	Adherente
Situación respecto a los OMG	GMO-S1

Detalles sobre la presencia de OMG

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.

Nivel de bioseguridad	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

CARACTERÍSTICAS

Morfología	De tipo epitelial
Tipo de célula	Células epiteliales (osteosarcoma)
Tiempo de duplicación	entre 24 y 36 horas, aproximadamente

IDENTIFICADORES

Referencia

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 (número de catálogo de Cytion 300663)

N.º de identificación fiscal del NCBI	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Depositario	Laboratorio Ellenberg (EMBL)

EXPRESIÓN Y SUSCEPTIBILIDAD

Expresión de proteínas

Nup358/RanBP2, SNAPf-tag

MANEJO Y CULTIVO

Medio de cultivo

McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glucosa, w: Glutamina estable, w: 2,0 mM Piruvato sódico, w: 2,2 g/L NaHCO3 (número de artículo de Cytion 820200a)

Atmósfera de incubación	37°C, 5%CO2, atmósfera humidificada.

Suplementos

Suplementar el medio con 10% FBS, 3,0 g/L de Glucosa, Glutamina estable, 2,0 mM de Piruvato sódico, 2,2 g/L de NaHCO3, 1% de NEAA

Reactivo de disociación	Accutase

Subcultivo

Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.

Relación de división	Del 1 al 3
Densidad de siembra	De 1 a 3 × 10^4 células/cm^2
Renovación de fluidos	de 2 a 3 veces por semana

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

Descongelación y cultivo

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.

CONTROL DE CALIDAD Y CRIOPRESERVACIÓN

Esterilidad

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.
Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

Medio de congelación	Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Condiciones de almacenamiento

Para la conservación a largo plazo, colocar los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Condiciones de envío

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

DONANTE

Edad del donante	15 años
Origen étnico	Caucásico

ASPECTOS LEGALES Y DE SEGURIDAD

Medidas de seguridad

Cuando se planea almacenar un criovial en nitrógeno líquido para su futura descongelación, es obligatorio cumplir estrictas medidas de seguridad. Es esencial utilizar guantes y ropa de protección adecuados, así como una mascarilla o gafas de seguridad durante el traslado de muestras congeladas desde o hacia el tanque de nitrógeno líquido. Con ello se pretende mitigar el riesgo de lesiones por posibles explosiones crioviales al extraerlas, que pueden dar lugar a la proyección de fragmentos afilados.

Garantía

En Cytion, respaldamos la calidad y viabilidad de nuestros productos.
Garantizamos que nuestras células serán viables al inicio del cultivo durante los 60 días posteriores al envío desde nuestras instalaciones.
Aseguramos que todos los materiales se ajustan a las especificaciones descritas en el Certificado de Análisis y/o Hoja de Producto
Para más información, consulte nuestra <a href=""/Quiénes somos/Garantía/"" hreflang=""x-default"">Declaración de garantía

Se aplican los acuerdos con terceros	Yes