U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2

300663

GENERAL INFORMATION

Description

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 es una línea celular de osteosarcoma humano editada genómicamente, derivada de células U2OS, en la que el locus endógeno de RANBP2 (también conocida como NUP358) ha sido modificado mediante CRISPR/Cas9 para codificar una etiqueta SNAPf en marco de lectura con la proteína nativa. Nup358/RanBP2 es una nucleoporina de gran tamaño localizada en los filamentos citoplasmáticos del complejo de poros nucleares (NPC) y desempeña funciones críticas en el transporte nucleocitoplasmático, la SUMOilación y los procesos mitóticos. El etiquetado endógeno garantiza que SNAPf-Nup358 se exprese bajo el control de un promotor fisiológico, lo que mantiene los niveles de expresión nativos y minimiza los artefactos asociados con los sistemas de sobreexpresión.
La etiqueta SNAPf es una variante de marcaje rápido de la etiqueta SNAP que se une covalentemente a sustratos conjugados con bencilguanina, lo que permite el marcaje 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 citoplasmáticos del NPC. Esta configuración permite el uso de imágenes de fluorescencia de alta resolución, microscopía de superresolución, marcaje de pulso-persecución y técnicas de seguimiento de moléculas individuales para estudiar la arquitectura y la dinámica del 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 de las nucleoporinas dependiente del ciclo celular y el desmontaje/reensamblaje del NPC durante la mitosis. U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 ofrece una plataforma fisiológicamente relevante para analizar los aspectos estructurales y funcionales de la cara citoplasmática del complejo de poros nucleares en células humanas.

Tissue	Hueso
Disease	Osteosarcoma
Metastatic site	Localización del tumor primario (hueso)

Applications

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

CLASSIFICATION

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

GMO status details

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.

Biosafety level	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

CHARACTERISTICS

Morphology	De tipo epitelial
Cell type	Células epiteliales (osteosarcoma)
Doubling time	aprox. de 24 a 36 horas

IDENTIFIERS

Citation

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

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Depositor	El Laboratorio Ellenberg (EMBL)

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

Nup358/RanBP2, etiqueta SNAPf

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

McCoys 5a, p: 3,0 g/L de glucosa, p: glutamina estable, p: 2,0 mM de piruvato de sodio, p: 2,2 g/L de $NaHCO_3$ (número de artículo de Cytion 820200a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmósfera humidificada.

Supplements

Añade al medio un 10 % de FBS, 3,0 g/L de glucosa, glutamina estable, 2,0 mM de piruvato de sodio, 2,2 g/L de $NaHCO_3$ y un 1 % de NEAA.

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspendarlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfiéralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.

Split ratio	1 a 3
Seeding density	De 1 a 3 × 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	De 2 a 3 veces por semana

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

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.
Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

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

Storage conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre −150 y −196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a −80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Shipping conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente −78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

DONOR

Donor age	15 años
Ethnicity	caucásico

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Cuando se planea almacenar un criovial en nitrógeno líquido para su descongelación futura, es obligatorio cumplir con estrictas medidas de seguridad. Es esencial contar con guantes y ropa de protección adecuados, y se requiere el uso de una mascarilla o lentes de seguridad durante la transferencia de muestras congeladas hacia o desde el tanque de nitrógeno líquido. Esto tiene como objetivo mitigar el riesgo de lesiones por posibles explosiones de los criotubos al retirarlos, lo que puede provocar la proyección de fragmentos afilados.

Warranty

En Cytion, respaldamos la calidad y la viabilidad de nuestros productos.
Garantizamos que nuestras células serán viables al inicio del cultivo durante
60 días a partir de la fecha de envío desde nuestras instalaciones.
Aseguramos que todos los materiales cumplen con las especificaciones descritas en el
Certificado de Análisis y/o la Ficha del Producto.
Para obtener más detalles, consulte nuestra
Declaración de garantía.

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