U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2

300663

INFORMAZIONI GENERALI

Descrizione

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 è una linea cellulare di osteosarcoma umano modificata genomicamente derivata dalle cellule U2OS in cui il locus endogeno RANBP2 (noto anche come NUP358) è stato modificato da CRISPR/Cas9 per codificare un tag SNAPf in frame con la proteina nativa. Nup358/RanBP2 è una grande nucleoporina localizzata nei filamenti citoplasmatici del complesso dei pori nucleari (NPC) e svolge un ruolo fondamentale nel trasporto nucleocitoplasmatico, nella SUMOilazione e nei processi mitotici. Il tagging endogeno assicura che SNAPf-Nup358 sia espresso sotto il controllo fisiologico del promotore, mantenendo i livelli di espressione nativi e riducendo al minimo gli artefatti associati ai sistemi di sovraespressione.
Il tag SNAPf è una variante a marcatura rapida del tag SNAP che si lega in modo covalente ai substrati coniugati con benzilguanina, consentendo la marcatura fluorescente selettiva e stabile di Nup358 in cellule vive o fissate. Nelle cellule U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2, la proteina di fusione si localizza nell'involucro nucleare con una distribuzione puntiforme caratteristica dei filamenti NPC citoplasmatici. Questa configurazione supporta l'imaging a fluorescenza ad alta risoluzione, la microscopia a super risoluzione, l'etichettatura pulse-chase e gli approcci di tracciamento di singole molecole per studiare l'architettura e la dinamica dell'NPC. La morfologia piatta e i nuclei di grandi dimensioni delle cellule U2OS facilitano ulteriormente l'imaging quantitativo delle strutture dell'involucro nucleare.
Questo modello consente di studiare i ruoli specifici di Nup358 nell'esportazione nucleare dipendente da CRM1/exportina, nella regolazione del ciclo della GTPasi Ran e nell'organizzazione spaziale delle piattaforme di trasporto citoplasmatico. Dato il coinvolgimento di Nup358 nell'assemblaggio del fuso mitotico e nella funzione del cinetocoro, la linea cellulare è adatta anche per lo studio della ridistribuzione delle nucleoporine dipendente dal ciclo cellulare e del disassemblaggio/riassemblaggio dell'NPC durante la mitosi. U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 fornisce una piattaforma fisiologicamente rilevante per analizzare gli aspetti strutturali e funzionali della faccia citoplasmatica del complesso dei pori nucleari nelle cellule umane.

Tessuto	Osso
Malattia	Osteosarcoma
Sito metastatico	Sede del tumore primario (osso)

Applicazioni

Biologia dei filamenti citoplasmatici del complesso dei pori nucleari; Nup358/RanBP2 nell’esportazione nucleare mediata da CRM1; ciclo della GTPasi Ran; via SUMO; assemblaggio del fuso mitotico; tracciamento di singole particelle; microscopia a super-risoluzione; marcatura SNAP pulse-chase; architettura della faccia citoplasmatica del complesso dei pori nucleari

CLASSIFICAZIONE

Organismo	Umano
Sesso	Donna
Proprietà di crescita	Aderente
Presenza di OGM	GMO-S1

Dettagli sullo stato degli OGM

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.

Livello di biosicurezza	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

CARATTERISTICHE

Morfologia	Simile all'epitelio
Tipo di cellula	Cellule epiteliali (osteosarcoma)
Tempo di raddoppio	circa da 24 a 36 ore

IDENTIFICATORI

Riferimento bibliografico

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 (catalogo Cytion numero 300663)

Codice fiscale NCBI	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Depositario	Il laboratorio Ellenberg (EMBL)

ESPRESSIONE E SUSCETTIBILITÀ

Espressione proteica

Nup358/RanBP2, etichetta SNAPf

MANIPOLAZIONE E COLTURA

Terreno di coltura

McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glucosio, w: Glutammina stabile, w: 2,0 mM Sodio piruvato, w: 2,2 g/L NaHCO3 (articolo Cytion numero 820200a)

Atmosfera di incubazione	37°C, 5%CO2, atmosfera umidificata.

Integratori

Integrare il terreno di coltura con 10% FBS, 3,0 g/L di glucosio, Glutammina stabile, 2,0 mM di piruvato di sodio, 2,2 g/L di NaHCO3, 1% di NEAA

Reagente di dissociazione	Accutase

Subcoltura

Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Rapporto di frazionamento	da 1 a 3
Densità di semina	da 1 a 3 × 10^4 cellule/cm^2
Rinnovo dei fluidi	da 2 a 3 volte alla settimana

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

Scongelamento e coltura

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.

CONTROLLO DI QUALITÀ E CRIOCONSERVAZIONE

Sterilità

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.
Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Terreno di coltura congelato	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Condizioni di conservazione

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Condizioni di spedizione

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

DONATORE

Età dei donatori	15 anni
Etnia	Caucasico

ASPETTI LEGALI E DI SICUREZZA

Misure di sicurezza

Quando si prevede di conservare una crioviale in azoto liquido per un futuro scongelamento, è obbligatorio attenersi a rigorose misure di sicurezza. Guanti e indumenti protettivi appropriati sono essenziali e l'uso di una maschera facciale o di occhiali di sicurezza è richiesto durante il trasferimento dei campioni congelati da o verso il serbatoio di azoto liquido. Questo per ridurre il rischio di lesioni dovute a potenziali esplosioni di crioviali al momento della rimozione, che possono provocare la proiezione di frammenti taglienti.

Garanzia

Noi di Cytion garantiamo la qualità e la vitalità dei nostri prodotti.
Garantiamo che le nostre cellule saranno vitali all'inizio della coltura per 60 giorni dopo la spedizione dai nostri stabilimenti.
Assicuriamo che tutti i materiali sono conformi alle specifiche descritte nel Certificato di Analisi e/o nella Scheda Prodotto
Per tutti i dettagli, consultare la nostra <a href=""/Chi-siamo/Garanzia/"" hreflang=""x-default"">Dichiarazione di Garanzia

Si applicano gli accordi con terze parti	Yes