# U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2

300663

## INFORMAÇÕES GERAIS

### Descrição

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 é uma linha celular de osteossarcoma humano editada genomicamente derivada de células U2OS, na qual o locus RANBP2 endógeno (também conhecido como NUP358) foi modificado por CRISPR/Cas9 para codificar uma etiqueta SNAPf em quadro com a proteína nativa. Nup358/RanBP2 é uma grande nucleoporina localizada nos filamentos citoplasmáticos do complexo de poros nucleares (NPC) e desempenha papéis críticos no transporte nucleocitoplasmático, SUMOilação e processos mitóticos. A marcação endógena garante que SNAPf-Nup358 seja expresso sob o controlo fisiológico do promotor, mantendo os níveis de expressão nativos e minimizando artefactos associados a sistemas de superexpressão.
A etiqueta SNAPf é uma variante de marcação rápida da etiqueta SNAP que se liga covalentemente a substratos conjugados com benzilguanina, permitindo a marcação fluorescente seletiva e estável de Nup358 em células vivas ou fixas. Nas células U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2, a proteína de fusão localiza-se no envelope nuclear numa distribuição pontilhada característica dos filamentos NPC citoplasmáticos. Esta configuração suporta imagens de fluorescência de alta resolução, microscopia de super-resolução, marcação pulse-chase e abordagens de rastreamento de moléculas únicas para estudar a arquitetura e a dinâmica do NPC. A morfologia plana e os núcleos grandes das células U2OS facilitam ainda mais a imagem quantitativa das estruturas do envelope nuclear.
Este modelo permite a investigação das funções específicas da Nup358 na exportação nuclear dependente de CRM1/exportina, na regulação do ciclo da Ran GTPase e na organização espacial das plataformas de transporte citoplasmático. Dado o envolvimento da Nup358 na montagem do fuso mitótico e na função do cinetocoro, a linha celular também é adequada para estudar a redistribuição dependente do ciclo celular das nucleoporinas e a desmontagem/remontagem do NPC durante a mitose. O U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 fornece uma plataforma fisiologicamente relevante para dissecar os aspetos estruturais e funcionais da face citoplasmática do complexo de poros nucleares em células humanas.

| | |
|---|---|
| **Tecido** | Osso |
| **Doença** | Osteossarcoma |
| **Local da metástase** | Localização do tumor primário (osso) |

### Aplicações

Biologia dos filamentos citoplasmáticos do complexo de poros nucleares; Nup358/RanBP2 na exportação nuclear mediada por CRM1; ciclo da GTPase Ran; via SUMO; montagem do fuso mitótico; rastreio de partículas individuais; microscopia de super-resolução; marcação SNAP por pulso-perseguição; arquitetura da face citoplasmática do NPC

## CLASSIFICAÇÃO

| | |
|---|---|
| **Organismo** | Humano |
| **Sexo** | Feminino |
| **Propriedades de crescimento** | Aderente |
| **Estatuto em matéria de OGM** | GMO-S1 |

### Detalhes sobre o estatuto dos 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.

| | |
|---|---|
| **Nível de biossegurança** | 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

| | |
|---|---|
| **Morfologia** | De tipo epitelial |
| **Tipo de célula** | Células epiteliais (osteossarcoma) |
| **Tempo de duplicação** | aprox. 24 a 36 horas |

## IDENTIFICADORES

**Referência**

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

| | |
|---|---|
| **Número de identificação fiscal do NCBI** | 9606 |
| **Cellosaurus** | Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042) |
| **Depositante** | O Laboratório Ellenberg (EMBL) |

## EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

**Expressão proteica**

Nup358/RanBP2, SNAPf-tag

## MANUSEAMENTO E CULTURA

**Meio de cultura**

McCoys 5a, com: 3,0 g/L de glucose, com: glutamina estável, com: 2,0 mM de piruvato de sódio, com: 2,2 g/L de NaHCO3 (número de artigo Cytion 820200a)

| | |
|---|---|
| **Atmosfera de incubação** | 37°C, 5%CO2, atmosfera humidificada. |

**Suplementos**

Suplementar o meio com 10% de FBS, 3,0 g/L de glucose, glutamina estável, 2,0 mM de piruvato de sódio, 2,2 g/L de NaHCO3, 1% de NEAA

| | |
|---|---|
| **Reagente de dissociação** | Accutase |

**Subcultura**

Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

| | |
|---|---|
| **Rácio de divisão** | 1 a 3 |
| **Densidade de sementeira** | 1 a 3 × $10^4$ células/$cm^2$ |
| **Renovação de fluidos** | 2 a 3 vezes por semana |

### Descongelamento e cultura

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.

## CONTROLO DE QUALIDADE E CRIOPRESERVAÇÃO

### Esterilidade

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.
Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

| | |
|---|---|
| **Meio de congelação** | Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio. |

### Condições de armazenamento

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

### Condições de envio

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## DOADOR

| | |
|---|---|
| **Idade do dador** | 15 anos |
| **Etnia** | Caucasiano |

## ASPECTOS LEGAIS E DE SEGURANÇA

### Precauções de segurança

Quando se planeia armazenar um criovial em nitrogénio líquido para descongelação futura, é obrigatório aderir a medidas de segurança rigorosas. Luvas e vestuário de proteção adequados são essenciais, e a utilização de uma máscara facial ou óculos de segurança é necessária durante a transferência de amostras congeladas para ou do tanque de nitrogénio líquido. Isto destina-se a mitigar o risco de ferimentos provocados por potenciais explosões de crioviais após a remoção, que podem resultar na projeção de fragmentos afiados.

### Garantia

Na Cytion, nós garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células serão viáveis no início da cultura por 60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no Certificado de Análise e/ou Folha de Produto
Para mais informações, consulte a nossa <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Declaração de Garantia

| | |
|---|---|
| **Aplicam-se os acordos com terceiros** | Yes |