U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133

300666

ALLGEMEINE INFORMATIONEN

Beschreibung

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 ist eine gentechnisch veränderte humane Osteosarkom-Zelllinie, die aus dem parentalen U2OS-Hintergrund stammt, in dem der endogene NUP133-Locus mittels CRISPR/Cas9-vermittelter Genom-Editierung modifiziert wurde, um ein C-terminales SNAPf-Tag zu kodieren. NUP133 ist eine Kernkomponente des Y-Komplexes (NUP107-160-Komplex), einem strukturellen Subkomplex, der für den Aufbau und die Aufrechterhaltung des Kernporenkomplexes (NPC) unerlässlich ist. Durch die Einführung der SNAPf-Kodierungssequenz im In-Frame am endogenen Locus wird das Fusionsprotein unter nativer regulatorischer Kontrolle exprimiert, wodurch die physiologischen Expressionsniveaus und die subzelluläre Lokalisierung erhalten bleiben.
Das SNAPf-Tag ist eine schnell markierende Variante des SNAP-Tags, einer künstlich hergestellten O6-Alkylguanin-DNA-Alkyltransferase, die kovalent mit Benzylguanin-konjugierten Substraten reagiert. Dies ermöglicht eine hochspezifische und vielseitige Fluoreszenzmarkierung von Nup133 in lebenden oder fixierten Zellen unter Verwendung von zellpermeablen oder impermeablen SNAP-Substraten. In U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133-Zellen lokalisiert sich das Fusionsprotein in einem für Kernporenkomplexe charakteristischen punktförmigen Muster an der Kernhülle. Da die Markierung am endogenen Locus erfolgt, werden die Stöchiometrie und Architektur der NPC nur minimal gestört, sodass sich dieses Modell für quantitative Superauflösungsmikroskopie, Einzelmolekülverfolgung und kinetische Analysen des NPC-Aufbaus und -Umsatzes eignet.
Diese Zelllinie bietet eine robuste Plattform für die Untersuchung des Kerntransports, der Dynamik des nukleozytoplasmatischen Transports, der NPC-Biogenese während der Interphase und des postmitotischen Kernumbaus sowie der strukturellen Organisation des Y-Komplexes innerhalb des Porengerüsts. Der U2OS-Hintergrund bietet eine flache Morphologie und große Kerne, was eine hochauflösende Bildgebung erleichtert. U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133-Zellen eignen sich besonders gut für Pulse-Chase-Markierungsexperimente, korrelative Licht- und Elektronenmikroskopie sowie Mehrfarben-Bildgebungsverfahren in Kombination mit zusätzlichen endogen markierten Nukleoporinen oder Transportfaktoren.

Gewebe	Knochen
Krankheit	Osteosarkom
Metastasenherd	Primärtumorlokalisation (Knochen)

Anwendungen

Biologie des Kernporenkomplexes (NPC); Architektur des Nup133/Y-Komplexes; NPC-Biogenese; nukleozytoplasmatischer Transport; Superauflösungsmikroskopie (STORM/PALM/STED); Einzelpartikelverfolgung; Pulse-Chase-SNAP-Markierung; korrelative Licht- und Elektronenmikroskopie; quantitative NPC-Stöchiometrie

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-Nup133) contains a CRISPR-introduced SNAPf-Nup133 fusion, enabling fluorescent tagging of the Nup133 nucleoporin. The insert is stably present. 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-Nup133 (Cytion-Katalognummer 300666)

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

EXPRESSION UND ANFÄLLIGKEIT

Proteinexpression

Nup133, 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