U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133

300666

INFORMACIÓN GENERAL

Descripción

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 es una línea celular de osteosarcoma humano modificada genéticamente derivada del fondo parental U2OS en la que se ha modificado el locus NUP133 endógeno mediante la edición del genoma mediada por CRISPR/Cas9 para codificar una etiqueta SNAPf C-terminal. NUP133 es un componente central del complejo Y (complejo NUP107-160), un subcomplejo estructural esencial para el ensamblaje y mantenimiento del complejo de poros nucleares (NPC). Al introducir la secuencia codificante SNAPf en el locus endógeno, la proteína de fusión se expresa bajo control regulador nativo, conservando los niveles de expresión fisiológicos y la localización subcelular.
La etiqueta SNAPf es una variante de etiquetado rápido de la etiqueta SNAP, una O6-alquilguanina-ADN alquiltransferasa modificada genéticamente que reacciona covalentemente con sustratos conjugados con bencilguanina. Esto permite un etiquetado fluorescente altamente específico y versátil de Nup133 en células vivas o fijadas utilizando sustratos SNAP permeables o impermeables a las células. En las células U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133, la proteína de fusión se localiza en la envoltura nuclear con un patrón punteado característico de los complejos de poros nucleares. Dado que el etiquetado se produce en el locus endógeno, la estequiometría y la arquitectura de los NPC se ven mínimamente perturbadas, lo que hace que este modelo sea adecuado para la microscopía cuantitativa de superresolución, el seguimiento de moléculas individuales y los análisis cinéticos del ensamblaje y el recambio de los NPC.
Esta línea celular proporciona una plataforma sólida para estudiar el transporte nuclear, la dinámica del tráfico nucleocitoplasmático, la biogénesis de los NPC durante la interfase y el reensamblaje nuclear posmitótico, y la organización estructural del complejo Y dentro del andamio del poro. El fondo U2OS ofrece una morfología plana y núcleos grandes, lo que facilita la obtención de imágenes de alta resolución. Las células U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 son especialmente adecuadas para experimentos de marcaje por pulso-persecución, microscopía óptica y electrónica correlativa y técnicas de imagen multicolor en combinación con nucleoporinas o factores de transporte marcados endógenamente adicionales.

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

Aplicaciones

Biología del complejo de poros nucleares (NPC); arquitectura del complejo Nup133/Y; biogénesis del NPC; transporte nucleocitoplasmático; microscopía de superresolución (STORM/PALM/STED); seguimiento de partículas individuales; marcaje SNAP por pulso-persecución; microscopía correlativa de luz y electrónica; estequiometría cuantitativa 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-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.

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-Nup133 (número de catálogo de Cytion 300666)

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

Nup133, 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