U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133

300666

GENERAL INFORMATION

Description

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 es una línea celular de osteosarcoma humano modificada genéticamente, derivada de la línea parental U2OS, en la que el locus endógeno de NUP133 ha sido modificado mediante edición genómica mediada por CRISPR/Cas9 para codificar una etiqueta SNAPf en el extremo 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 de SNAPf en marco de lectura en el locus endógeno, la proteína de fusión se expresa bajo control regulatorio nativo, conservando los niveles de expresión fisiológicos y la localización subcelular.
La etiqueta SNAPf es una variante de marcaje rápido de la etiqueta SNAP, una O6-alquilguanina-ADN-alquiltransferasa modificada genéticamente que reacciona covalentemente con sustratos conjugados con bencilguanina. Esto permite un marcaje fluorescente altamente específico y versátil de Nup133 en células vivas o fijadas utilizando sustratos SNAP permeables o impermeables a la membrana celular. 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 marcaje ocurre en el locus endógeno, la estequiometría y la arquitectura de los complejos de poros nucleares (NPC) se ven mínimamente alteradas, 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 la renovación de los NPC.
Esta línea celular proporciona una plataforma robusta para estudiar el transporte nuclear, la dinámica del tráfico nucleocitoplasmático, la biogénesis de los NPC durante la interfase y el reensamblaje nuclear posmitótico, así como la organización estructural del complejo Y dentro del andamio de los poros. 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 particularmente adecuadas para experimentos de marcaje de pulso-persecución, microscopía correlativa de luz y electrónica, y técnicas de imágenes multicolores en combinación con nucleoporinas o factores de transporte adicionales marcados de forma endógena.

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

Applications

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

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-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.

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-Nup133 (número de catálogo de Cytion 300666)

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

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

Nup133, SNAPf-tag

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

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

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