U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP

300444

OBECNÉ INFORMACE

Popis

U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP je geneticky modifikovaná buněčná linie osteosarkomu odvozená od mateřské lidské buněčné linie U-2 OS. Tato buněčná linie byla upravena pomocí editace genomu zprostředkované CRISPR/Cas9 tak, aby obsahovala značku SNAP u genu NUP96, což umožňuje vizualizaci a studium dynamiky komplexu jaderných pórů. Komplexy jaderných pórů (NPC) mají zásadní význam pro regulaci nukleocytoplazmatického transportu a NUP96 je významnou součástí NPC a hraje klíčovou roli v jeho strukturální integritě a funkci.
V klonu U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP č. 33 umožňuje integrace značky SNAP do lokusu NUP96 specifické a kovalentní připojení fluorescenčních substrátů nebo jiných chemických sond, které lze použít pro zobrazování živých buněk a další biochemické testy. Tato vlastnost z něj činí neocenitelný nástroj pro zkoumání molekulární dynamiky nukleocytoplazmatického transportu, pochopení patologií souvisejících s NPC a screening terapeutických sloučenin, které ovlivňují funkci NPC. Buněčná linie si rovněž zachovává vlastnosti rodičovské linie U-2 OS, mezi něž patří vysoká úroveň genetické stability a snadná kultivace, což ji činí vhodnou pro vysoce výkonný screening a rozšířené studie v buněčné biologii.
Díky specifičnosti modifikace v genu NUP96 poskytuje klon č. 33 U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP jedinečný model pro podrobné studium složek NPC v kontextu buněčné funkce a dysfunkce. Výzkumníci mohou využít systém značek SNAP k selektivnímu a rychlému značení NUP96, což usnadňuje vizualizaci dynamiky NPC v reálném čase za fyziologických a patologických podmínek. Tento specifický klon může sloužit jako robustní platforma pro základní výzkum i aplikované biomedicínské studie a významně přispět k rozvoji oborů buněčné biologie, genetiky a onkologie.

Tkáň	Kost
Nemoc	Osteosarkom

KLASIFIKACE

Organismus	Člověk
Sex	Žena
Růstové vlastnosti	Přívrženec
Stav GMO	GMO-S1

Podrobnosti o statusu GMO

GMO-S1: This human osteosarcoma cell line (U2OS-CRISPR-NUP96-SNAP, clone 33) contains a CRISPR-engineered NUP96-SNAP fusion facilitating SNAP-tag chemical labeling of nuclear pores. The modification is stably integrated. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Úroveň biologické bezpečnosti	1

IDENTIFIKÁTORY

Citace

U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (katalogové číslo Cytion 300444)

Daňové identifikační číslo NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FL
Vkladatel	Ellenbergova laboratoř (EMBL)

EXPRESE A NÁCHYLNOST

Exprese proteinů

NUP96-SNAP (protein komplexu jaderných pórů 96, značka SNAP)

MANIPULACE A CHOV

Pěstovací médium

McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukóza, w: stabilní glutamin, w: 2,0 mM pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO3 (číslo článku Cytion 820200a)

Inkubační atmosféra	37 °C, 5 %CO2, zvlhčená atmosféra.

Doplňky stravy

Doplňte médium o 10% FBS, 3,0 g/l glukózy, stabilní glutamin, 2,0 mM pyruvát sodný, 2,2 g/l NaHCO3, 1% NEAA

Disociační činidlo	Accutase

Subkultivace

Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Hustota výsevu	1 x 10^4 buněk/cm^2
Obnova tekutin	2 až 3krát týdně

Rozmrazování a kultivace

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.

KONTROLA KVALITY A KRYOKONZERVACE

Sterilita

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Mrazicí médium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Podmínky skladování

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Dopravní podmínky

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

DÁRCE

Věk dárce	15 let
Etnická příslušnost	Kavkazský

PRÁVNÍ INFORMACE A BEZPEČNOSTNÍ POKYNY

Bezpečnostní opatření

Při plánování uložení kryovialu v kapalném dusíku pro budoucí rozmrazení je nutné dodržovat přísná bezpečnostní opatření. Nezbytné jsou vhodné ochranné rukavice a oděv a při přenášení zmrazených vzorků do nádrže s kapalným dusíkem nebo z ní je nutné používat obličejovou masku nebo ochranné brýle. To proto, aby se snížilo riziko zranění v důsledku možných výbuchů kryovialů při jejich vyjímání, které mohou mít za následek vystřelování ostrých úlomků.

Záruka

Ve společnosti Cytion si stojíme za kvalitou a životaschopností našich produktů.
Zaručujeme, že naše buňky budou životaschopné na začátku kultivace po dobu 60 dnů po odeslání z našich zařízení.
Zaručujeme, že všechny materiály odpovídají specifikacím popsaným v certifikátu analýzy a/nebo v produktovém listu
Úplné informace naleznete v našem <a href=""/Kdo-jsme/Záruka/"" hreflang=""x-default"">Záručním prohlášení

Platí smlouvy s třetími stranami	Yes