U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP

300444

GENERAL INFORMATION

Description

קו תאים זה הונדס באמצעות U-2 OS. הוא קו תאים של אוסטאוסרקומה מהונדס גנטית, שמקורו בקו התאים האנושי U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP. מה שמאפשר הדמיה וחקירה של הדינמיקה של קומפלקס הנקבוביות הגרעיניות, NUP96 בגן SNAP כדי לשלב תג CRISPR/Cas9 עריכת גנום בתיווך NUP96-הוא מרכיב משמעותי ב NPC, הממלא תפקיד חיוניים לוויסות הובלת חומרים בין הגרעין לציטופלזמה, ו (NPC) קומפלקסים של נקבוביות גרעיניות מרכזי בשלמותו המבנית ובתפקודו.

מאפשר חיבור ספציפי וקובלנטי של מצעים פלואורסצנטיים או NUP96 בלוקוס SNAP מס' 33, שילוב התג U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP בשיבוט גלאים כימיים אחרים, שניתן להשתמש בהם להדמיה של תאים חיים ולבדיקות ביוכימיות אחרות. תכונה זו הופכת אותו לכלי יקר ערך לחקר הדינמיקה NPC-ולסינון תרכובות טיפוליות המשפיעות על תפקוד ה NPC-המולקולרית של הובלה גרעינית-ציטופלזמית, להבנת פתולוגיות הקשורות ל קו התאים. ההורי, הכוללים רמה גבוהה של יציבות גנטית וקלות גידול, מה שהופך אותו מתאים לסינון תפוקה גבוהה U-2 OS-שומר גם על המאפיינים של קו ה ולמחקרים ממושכים בביולוגיה תאית.

בהקשר של NPC מספק מודל ייחודי למחקר מפורט של רכיבי NUP96, U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP clone no.33 בשל הספציפיות של השינוי בגן מה שמאפשר הדמיה בזמן אמת, NUP96 כדי לסמן באופן סלקטיבי ומהיר את SNAP-tag תפקוד ותפקוד לקוי של התא. חוקרים יכולים לנצל את מערכת בתנאים פיזיולוגיים ופתולוגיים. שיבוט ספציפי זה יכול לשמש כפלטפורמה איתנה הן למחקר בסיסי והן למחקרים ביו-רפואיים NPC של הדינמיקה של יישומיים, ותורם באופן משמעותי לתחומי הביולוגיה התאית, הגנטיקה והאונקולוגיה.

Tissue	עצם
Disease	אוסטאוסרקומה

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

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.

Biosafety level	1

IDENTIFIERS

Citation

U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (מספר קטלוגי Cytion 300444)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FL
Depositor	מעבדת אלנברג (EMBL)

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

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

NUP96-SNAP (96 חלבון מורכב נקבוביות גרעיניות, SNAP-tag)

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

McCoys 5a, w: 3.0 g/L גלוקוז, w: יציב גלוטמין, w: 2.0 mM נתרן פירובט, w: 2.2 g/L NaHCO3 (מספר פריט Cytion 820200a)

Incubation atmosphere	37°C, 5%CO2, אווירה לחה.

Supplements

NaHCO3, 1% NEAA גרם/ליטר גלוקוז, גלוטמין יציב, 2.0 מ"מ נתרן פירובט, 2.2 גרם/ליטר FBS, 3.0 הוסף לתמיסה 10%

Dissociation reagent	אקוטאז

Subculturing

T75, ועבור בקבוקי PBS, השתמש ב-3-5 מ"ל T25, ללא סידן ומגנזיום. עבור בקבוקי PBS-הסר את המדיום הישן מהתאים הדבוקים ושטוף אותם ב השאר את .T75 ו-2.5 מ"ל עבור בקבוקי T25 תוך שימוש ב-1-2 מ"ל עבור בקבוקי Accutase-השתמש ב-5-10 מ"ל. לאחר מכן, כסה את התאים לחלוטין ב התאים לדגירה בטמפרטורת החדר למשך 8-10 דקות כדי לנתק אותם. לאחר הדגירה, ערבב בעדינות את התאים עם 10 מ"ל של מדיום כדי להחזיר אותם למשך 3 דקות. השלך את הנוזל העליון, החזר את התאים לתמיסה במדיום טרי והעבר אותם לצלחות חדשות xgלתמיסה, ואז סובב בצנטריפוגה ב-300 שכבר מכילות מדיום טרי.

Seeding density	1 x 10^4 תאים/סמ"ר
Fluid renewal	עד 3 פעמים בשבוע 2

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

ושיטות זיהוי מיקופלסמה מבוססות לומניסצנציה PCR זיהום במיקופלסמה נשלל באמצעות בדיקות מבוססות.
כדי להבטיח שאין זיהום חיידקי, פטרייתי או שמרי, תרבויות התאים עוברות בדיקות ויזואליות יומיות.

Freeze medium	כדי להבטיח 10% DMSO + (FBS כולל) כמדיום לשימור בקירור, אנו משתמשים במדיום גידול מלא הכולל חומרים אוסמו- (Cytion 800100 מספר קטלוגי) CM-1 חיוניות נאותה לאחר ההפשרה, או מגנים ומייצבי מטבוליזם משופרים כדי לשפר את ההתאוששות ולהפחית את הלחץ הנגרם מהקפאה.

Storage conditions

לשימור לטווח ארוך, יש להניח את הבקבוקונים בחנקן נוזלי במצב של אדי בטמפרטורה של כ-150 עד 196 מעלות צלזיוס. אחסון בטמפרטורה של 80 מעלות צלזיוס מקובל רק כצעד ביניים קצר לפני העברה לחנקן נוזלי.

Shipping conditions

במהלך C-שורות תאים שהוקפאו נשלחות בקרח יבש באריזה מאושרת ומבודדת עם כמות מספקת של חומר קירור כדי לשמור על טמפרטורה של כ-78° ההובלה. עם קבלת המשלוח, יש לבדוק את המכל מיד ולהעביר את הבקבוקונים ללא דיחוי לאחסון מתאים.

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

DONOR

Donor age	15 שנים
Ethnicity	קווקזי

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

כאשר מתכננים לאחסן קריוביאל בחנקן נוזלי להפשרה עתידית, חובה להקפיד על אמצעי בטיחות מחמירים. יש להקפיד על שימוש בכפפות ובבגדים מגנים מתאימים, וכן על שימוש במסכת פנים או משקפי מגן בעת העברת דגימות קפואות אל מיכל החנקן הנוזלי או ממנו. זאת כדי להפחית את הסיכון לפציעה כתוצאה מפיצוץ אפשרי של הקריוביאל בעת הוצאתו, העלול לגרום להתזת רסיסים חדים.

Warranty

אנו עומדים מאחורי האיכות והכדאיות של המוצרים שלנו, Cytion-ב.
אנו מבטיחים שתאינו יהיו קיימים בתחילת התרבית למשך
60 יום לאחר המשלוח מהמתקנים שלנו.
אנו מבטיחים שכל החומרים תואמים למפרטים המתוארים
בתעודת הניתוח ו/או בדף המוצר.
לפרטים מלאים, אנא עיינו ב
הצהרת האחריות שלנו<a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">

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