U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP

300444

ÁLTALÁNOS INFORMÁCIÓK

Leírás

Az U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP egy genetikailag módosított osteosarcoma-sejtvonal, amely az U-2 OS humán szülői sejtvonalból származik. Ezt a sejtvonalat CRISPR/Cas9 által közvetített genomszerkesztéssel úgy alakították át, hogy a NUP96 génhez SNAP-tagot építsenek be, ami lehetővé teszi a nukleáris pórus komplex dinamikájának vizualizálását és tanulmányozását. A nukleáris póruskomplexek (NPC-k) kulcsfontosságúak a nukleocitoplazmatikus transzport szabályozásában, és a NUP96 az NPC egyik jelentős összetevője, amely kulcsszerepet játszik annak strukturális integritásában és működésében.
Az U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP 33. számú klónban a SNAP-tag integrálása a NUP96 lókuszba lehetővé teszi fluoreszcens szubsztrátok vagy más kémiai szondák specifikus és kovalens rögzítését, amelyek élő sejtek képalkotására és más biokémiai vizsgálatokra használhatók. Ez a tulajdonsága felbecsülhetetlen értékű eszközzé teszi a nukleocitoplazmatikus transzport molekuláris dinamikájának vizsgálatához, az NPC-vel kapcsolatos patológiák megértéséhez és az NPC funkciót befolyásoló terápiás vegyületek szűréséhez. A sejtvonal megtartja az U-2 OS szülői vonal jellemzőit is, amelyek közé tartozik a nagyfokú genetikai stabilitás és a könnyű tenyészthetőség, így alkalmas a nagy áteresztőképességű szűrésre és a sejtbiológiai vizsgálatok kiterjesztésére.
A NUP96 génnél végzett módosítás specificitása miatt az U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP 33. számú klón egyedülálló modellt biztosít az NPC komponenseinek részletes tanulmányozásához a sejtműködés és -diszfunkció összefüggésében. A kutatók kihasználhatják a SNAP-tag rendszert a NUP96 szelektív és gyors jelölésére, megkönnyítve az NPC dinamikájának valós idejű vizualizálását fiziológiai és patológiás körülmények között. Ez a specifikus klón robusztus platformként szolgálhat mind az alapkutatás, mind az alkalmazott orvosbiológiai vizsgálatok számára, jelentősen hozzájárulva a sejtbiológia, a genetika és az onkológia területéhez.

Szövet	Csont
Betegség	Osteosarcoma

OSZTÁLYOZÁS

Organizmus	Ember
Szex	Nő
Növekedési tulajdonságok	Hűséges
GMO-státusz	GMO-S1

A GMO-státuszra vonatkozó részletek

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.

Biológiai biztonsági szint	1

AZONOSÍTÓK

Hivatkozás

U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (Cytion katalógusszám: 300444)

NCBI adóazonosító szám	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FL
Betétes	Az Ellenberg Labor (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

KIFEJEZŐDÉS ÉS FOGÉKONYSÁG

Fehérjeexpresszió

NUP96-SNAP (nukleáris pórus komplex 96 fehérje, SNAP-tag)

KEZELÉS ÉS TENYÉSZTÉS

Táptalaj

McCoys 5a, w: 3,0 g/L glükóz, w: stabil glutamin, w: 2,0 mM nátrium-piruvát, w: 2,2 g/L NaHCO3 (Cytion cikkszám: 820200a)

Inkubációs környezet	37°C, 5%CO2, párásított légkör.

Kiegészítők

A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, 3,0 g/L glükózzal, stabil glutaminnal, 2,0 mM nátrium-piruváttal, 2,2 g/L NaHCO3-mal, 1% NEAA-val

Diszociációs reagens	Accutase

Átültetés

Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Ültetési sűrűség	1 x 10^4 sejt/cm^2
Folyadékcsere	hetente 2-3 alkalommal

Felolvasztás és tenyésztés

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.

MINŐSÉGELLENŐRZÉS ÉS KRIOKONZERVÁLÁS

Meddőség

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

Fagyasztóközeg	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Tárolási feltételek

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Szállítási feltételek

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

ADOMÁNYOZÓ

Az adományozó életkora	15 év
Etnikai hovatartozás	Kaukázusi

JOGI ÉS BIZTONSÁGI INFORMÁCIÓK

Biztonsági óvintézkedések

Ha egy kriovialitást folyékony nitrogénben tervezünk tárolni a későbbi kiolvasztás céljából, akkor kötelező betartani a szigorú biztonsági intézkedéseket. A megfelelő védőkesztyű és védőruházat elengedhetetlen, és a fagyasztott minták folyékony nitrogéntartályba vagy a folyékony nitrogéntartályból történő átvitele során arcmaszk vagy védőszemüveg használata szükséges. Ez azért van, hogy csökkentsék a kriovialis anyagok eltávolításakor bekövetkező esetleges robbanásból eredő sérülésveszélyt, amely éles szilánkok kilövellését eredményezheti.

Garancia

A Cytionnál kiállunk termékeink minősége és életképessége mellett.
Garantáljuk, hogy sejtjeink a tenyésztés megkezdésekor életképesek lesznek, a létesítményünkből történő kiszállítás után 60 napig.
Biztosítjuk, hogy minden anyag megfelel az analitikai tanúsítványban és/vagy a terméklapon leírt specifikációknak
A teljes részleteket lásd <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Garancia nyilatkozatunkban

Harmadik felekkel kötött megállapodások érvényesek	Yes