U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP

300444

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP to genetycznie zmodyfikowana linia komórek kostniakomięsaka pochodząca z macierzystej ludzkiej linii komórkowej U-2 OS. Ta linia komórkowa została zmodyfikowana poprzez edycję genomu za pomocą CRISPR/Cas9 w celu włączenia znacznika SNAP do genu NUP96, umożliwiając wizualizację i badanie dynamiki kompleksu porów jądrowych. Kompleksy porów jądrowych (NPC) mają kluczowe znaczenie dla regulacji transportu nukleocytoplazmatycznego, a NUP96 jest istotnym składnikiem NPC, odgrywając kluczową rolę w jego integralności strukturalnej i funkcji.
W klonie U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP nr 33, integracja znacznika SNAP w locus NUP96 pozwala na specyficzne i kowalencyjne przyłączanie fluorescencyjnych substratów lub innych sond chemicznych, które mogą być wykorzystywane do obrazowania żywych komórek i innych testów biochemicznych. Ta cecha sprawia, że jest to nieocenione narzędzie do badania dynamiki molekularnej transportu nukleocytoplazmatycznego, zrozumienia patologii związanych z NPC i badania przesiewowego związków terapeutycznych, które wpływają na funkcję NPC. Linia komórkowa zachowuje również cechy macierzystej linii U-2 OS, w tym wysoki poziom stabilności genetycznej i łatwość hodowli, dzięki czemu nadaje się do wysokowydajnych badań przesiewowych i rozszerzonych badań w biologii komórki.
Ze względu na specyficzność modyfikacji w genie NUP96, klon U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP nr 33 stanowi unikalny model do szczegółowego badania składników NPC w kontekście funkcji i dysfunkcji komórek. Naukowcy mogą wykorzystać system znaczników SNAP do selektywnego i szybkiego znakowania NUP96, ułatwiając wizualizację dynamiki NPC w czasie rzeczywistym w warunkach fizjologicznych i patologicznych. Ten specyficzny klon może służyć jako solidna platforma zarówno do badań podstawowych, jak i stosowanych badań biomedycznych, wnosząc znaczący wkład w dziedziny biologii komórkowej, genetyki i onkologii.

Chusteczka	Kość
Choroba	Mięsak kościopochodny

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Seks	Kobieta
Właściwości związane ze wzrostem	Zwolennik
Status GMO	GMO-S1

Szczegółowe informacje dotyczące 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.

Poziom bezpieczeństwa biologicznego	1

IDENTYFIKATORY

Źródło

U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (numer katalogowy Cytion 300444)

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FL
Wkładca	Laboratorium Ellenberg (EMBL)

EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

Ekspresja białek

NUP96-SNAP (białko kompleksu porów jądrowych 96, znacznik SNAP)

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukozy, w: stabilna glutamina, w: 2,0 mM pirogronianu sodu, w: 2,2 g/l NaHCO3 (numer artykułu Cytion 820200a)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.

Suplementy

Uzupełnić pożywkę o 10% FBS, 3,0 g/l glukozy, stabilną glutaminę, 2,0 mM pirogronianu sodu, 2,2 g/l NaHCO3, 1% NEAA

Odczynnik dysocjacyjny	Accutase

Hodowla komórek w subkulturze

Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Gęstość wysiewu	1 x 10^4 komórek/cm^2
Odnawianie płynów	2 do 3 razy w tygodniu

Rozmrażanie i hodowla

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 JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.
Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Pożywka do zamrażania	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C.
Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

DARCZYŃCA

Wiek dawcy	15 lat
Pochodzenie etniczne	Kaukaski

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Obowiązują umowy z podmiotami zewnętrznymi	Yes