U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP

300444

SPLOŠNE INFORMACIJE

Opis

U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP je gensko spremenjena celična linija osteosarkoma, ki izhaja iz osnovne človeške celične linije U-2 OS. Ta celična linija je bila z urejanjem genoma s pomočjo CRISPR/Cas9 spremenjena tako, da je v gen NUP96 vključila oznako SNAP, kar omogoča vizualizacijo in preučevanje dinamike kompleksa jedrnih por. Kompleksi jedrskih por (NPC) so ključni za uravnavanje nukleocitoplazemskega transporta, NUP96 pa je pomembna sestavina NPC, ki ima ključno vlogo pri njegovi strukturni celovitosti in delovanju. V klonu U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP št. 33 omogoča vključitev oznake SNAP v lokus NUP96 specifično in kovalentno pritrditev fluorescenčnih substratov ali drugih kemičnih sond, ki se lahko uporabljajo za slikanje živih celic in druge biokemične preskuse. Zaradi te lastnosti je to neprecenljivo orodje za raziskovanje molekularne dinamike nukleocitoplazemskega transporta, razumevanje patologij, povezanih z NPC, in iskanje terapevtskih spojin, ki vplivajo na delovanje NPC. Celična linija ohranja tudi značilnosti starševske linije U-2 OS, ki vključujejo visoko stopnjo genetske stabilnosti in enostavnost gojenja, zaradi česar je primerna za visoko zmogljivo presejanje in razširjene študije v celični biologiji.
Zaradi specifičnosti modifikacije na genu NUP96 je klon U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP št. 33 edinstven model za podrobno preučevanje komponent NPC v okviru celičnega delovanja in disfunkcije. Raziskovalci lahko izkoristijo sistem oznak SNAP za selektivno in hitro označevanje NUP96, kar omogoča vizualizacijo dinamike NPC v realnem času v fizioloških in patoloških pogojih. Ta specifični klon lahko služi kot robustna platforma za temeljne raziskave in uporabne biomedicinske študije ter pomembno prispeva k razvoju področij celične biologije, genetike in onkologije.

Tkivo	Kosti
Bolezen	Osteosarkom

RAZVRSTITEV

Organizem	Človek
Seks	Ženska
Lastnosti rasti	Pripadnik
Status GSO	GMO-S1

Podrobnosti o statusu GSO

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.

Stopnja biološke varnosti	1

IDENTIFIKATORJI

Navajanje vira

U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (kataloška številka Cytion 300444)

Davčna identifikacijska številka NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FL
Vlagatelj	Laboratorij Ellenberg (EMBL)

IZRAŽANJE IN DOVZETNOST

Ekspresija beljakovin

NUP96-SNAP (protein kompleksa jedrskih por 96, oznaka SNAP)

RAVNANJE IN GOJENJE

Gojišče

McCoys 5a, w: 3,0 g/L glukoze, w: stabilen glutamin, w: 2,0 mM natrijevega piruvata, w: 2,2 g/L NaHCO3 (številka izdelka Cytion 820200a)

Inkubacijska atmosfera	37 °C, 5 %CO2, vlažno ozračje.

Prehranska dopolnila

Gojišče dopolnite z 10 % FBS, 3,0 g/L glukoze, stabilnim glutaminom, 2,0 mM natrijevega piruvata, 2,2 g/L NaHCO3, 1 % NEAA

Reagenca za disociacijo	Accutase

Preusmeritev v drugo kulturo

Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Gostota setve	1 x 10^4 celic/cm^2
Obnova tekočine	2 do 3-krat na teden

Odtaljevanje in gojenje

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 KAKOVOSTI IN KRIOPREZERVACIJA

Sterilnost

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.
Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Medij za zamrzovanje	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Pogoji shranjevanja

Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Pogoji dostave

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

DONATOR

Starost darovalca	15 let
Etnična pripadnost	Kavkaški

PRAVNE ZADEVE IN VARNOST

Varnostni ukrepi

Pri načrtovanju shranjevanja kriovialov v tekočem dušiku za kasnejše odtaljevanje je treba obvezno upoštevati stroge varnostne ukrepe. Nujni so ustrezne zaščitne rokavice in oblačila, med prenosom zamrznjenih vzorcev v rezervoar s tekočim dušikom ali iz njega pa je potrebna uporaba obrazne maske ali zaščitnih očal. S tem se zmanjša tveganje poškodb zaradi morebitnih eksplozij kriovialov pri odstranjevanju, ki lahko povzročijo izstrelitev ostrih delcev.

Garancija

V podjetju Cytion stojimo za kakovostjo in uporabnostjo svojih izdelkov.
Zagotavljamo, da bodo naše celice ob začetku gojenja še 60 dni po odpremi iz naših obratov vitalne.
Zagotavljamo, da so vsi materiali skladni s specifikacijami, opisanimi v potrdilu o analizi in/ali listu izdelka
Za vse podrobnosti si oglejte našo <a href=""/Kdo smo/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garancijsko izjavo

Veljajo pogodbe s tretjimi strankami	Yes