U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP

300444

ALLMÄN INFORMATION

Beskrivning

U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP är en genetiskt modifierad osteosarkomcellinje som härrör från den mänskliga cellinjen U-2 OS. Denna cellinje har modifierats genom CRISPR/Cas9-medierad genomredigering för att införliva en SNAP-tagg vid NUP96-genen, vilket möjliggör visualisering och studier av kärnporskomplexets dynamik. Kärnporkomplex (NPC) är avgörande för regleringen av nukleocytoplasmatisk transport, och NUP96 är en betydande komponent i NPC och spelar en central roll för dess strukturella integritet och funktion.
I U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP clone no.33 möjliggör integrationen av SNAP-taggen vid NUP96-locus specifik och kovalent fastsättning av fluorescerande substrat eller andra kemiska prober som kan användas för avbildning av levande celler och andra biokemiska analyser. Denna egenskap gör den till ett ovärderligt verktyg för att undersöka den molekylära dynamiken i nukleocytoplasmatisk transport, förstå NPC-relaterade patologier och screena för terapeutiska föreningar som påverkar NPC-funktionen. Cellinjen behåller också egenskaperna hos föräldracellinjen U-2 OS, vilket inkluderar en hög grad av genetisk stabilitet och enkel odling, vilket gör den lämplig för screening med hög genomströmning och utökade studier inom cellbiologi.
På grund av specificiteten hos modifieringen vid NUP96-genen ger U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP-klon nr 33 en unik modell för detaljerad studie av NPC-komponenter i samband med cellulär funktion och dysfunktion. Forskare kan utnyttja SNAP-tag-systemet för att selektivt och snabbt märka NUP96, vilket underlättar visualisering i realtid av NPC-dynamik under fysiologiska och patologiska förhållanden. Denna specifika klon kan fungera som en robust plattform för både grundforskning och tillämpade biomedicinska studier och bidra väsentligt till områdena cellbiologi, genetik och onkologi.

Vävnad	Ben
Sjukdom	Osteosarkom

KLASSIFICERING

Organism	Människa
Kön	Kvinna
Tillväxtegenskaper	Följsam
GMO-status	GMO-S1

Detaljer om GMO-status

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.

Biosäkerhetsnivå	1

IDENTIFIERARE

Källa

U-2 OS-CRISPR-NUP96-SNAP (Cytion katalognummer 300444)

NCBI-skattenummer	9606
Cellosaurus	CVCL_B7FL
Insättare	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

UTTRYCK OCH MOTTAGLIGHET

Proteinexpression

NUP96-SNAP (kärnporskomplexprotein 96, SNAP-tagg)

HANTERING OCH ODLING

Odlingsmedium

McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glukos, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820200a)

Inkubationsatmosfär	37°C, 5%CO2, befuktad atmosfär.

Kosttillskott

Komplettera med 10% FBS, 3,0 g/L glukos, stabil glutamin, 2,0 mM natriumpyruvat, 2,2 g/L NaHCO3, 1% NEAA

Dissociationsmedel	Accutase

Vidareodling

Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Såtäthet	1 x 10^4 celler/cm^2
Vätskeförnyelse	2 till 3 gånger per vecka

Upptining och odling

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.

KVALITETSKONTROLL OCH KRYOKONSERVERING

Sterilitet

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

Frysmedel	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Förvaringsförhållanden

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

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

Leveransvillkor

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

DONATOR

Donatorns ålder	15 år
Etnicitet	Kaukasisk

JURIDISKA FRÅGOR OCH SÄKERHET

Säkerhetsföreskrifter

När man planerar att förvara en kryovial i flytande kväve för framtida upptining är det obligatoriskt att följa strikta säkerhetsåtgärder. Lämpliga skyddshandskar och skyddskläder är nödvändiga, och ansiktsmask eller skyddsglasögon måste användas vid överföring av frysta prover till eller från tanken med flytande kväve. Detta för att minska risken för skador på grund av eventuella explosioner i frysbehållaren vid borttagning, vilket kan leda till att vassa fragment projiceras.

Garanti

På Cytion står vi bakom våra produkters kvalitet och livskraft.
Vi garanterar att våra celler är livsdugliga vid odlingens början i 60 dagar efter leverans från våra anläggningar.
Vi försäkrar att allt material överensstämmer med de specifikationer som beskrivs i analyscertifikatet och/eller produktbladet
För fullständig information, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantiförklaring

Avtal med tredje part gäller	Yes