U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2

300663

معلومات عامة

الوصف

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 هو خط خلايا سرطانية عظمية بشرية معدلة جينومياً مشتقة من خلايا U2OS حيث تم تعديل موقع RANBP2 (المعروف أيضاً باسم NUP358) الداخلي بواسطة CRISPR/Cas9 لترميز علامة SNAPf في إطار البروتين الأصلي. Nup358/RanBP2 هو نوكليوبورين كبير وعمليات الانقسام. يضمن SUMOylation، ويلعب دورًا مهمًا في النقل النووي-السيتوبلازمي، و (NPC) موجود في خيوط السيتوبلازم لمركب المسام النووية يتم التعبير عنه تحت سيطرة المروج الفسيولوجي، مما يحافظ على مستويات التعبير الأصلية ويقلل من SNAPf-Nup358 وضع العلامات الداخلية أن التشوهات المرتبطة بأنظمة التعبير الزائد.
علامة SNAPf التي ترتبط تساهميًا بركائز مترافقة مع بنزيلجوانين، مما يتيح التسمية الفلورية الانتقائية والمستقرة لـ SNAP هي متغير سريع التسمية لعلامة SNAPf في الخلايا الحية أو الثابتة. في خلايا Nup358 في U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2، يتركز البروتين المدمج في الغلاف النووي في توزيع نقطي مميز السيتوبلازمية. يدعم هذا التكوين التصوير الفلوري عالي الدقة، والمجهر فائق الدقة، ووضع العلامات بنبضات متتابعة، وأساليب تتبع الجزيء لخيوط NPC التصوير الكمي لهياكل الغلاف النووي U2OS وديناميكياتها. تسهل الشكل المسطح والنوى الكبيرة لخلايا NPC الواحد لدراسة بنية.
والتنظيم المكاني، Ran GTPase وتنظيم دورة، CRM1/exportin في التصدير النووي المعتمد على Nup358 يتيح هذا النموذج دراسة الأدوار الخاصة بـ في تجميع المغزل الانقسامي ووظيفة الكينتوكور، فإن خط الخلايا مناسب أيضًا لدراسة إعادة توزيع Nup358 لمنصات النقل السيتوبلازمية. نظرًا لمشاركة منصة ذات صلة U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 أثناء الانقسام. يوفر NPC النوكليوبورينات المعتمدة على دورة الخلية وتفكيك/إعادة تجميع فسيولوجية لتشريح الجوانب الهيكلية والوظيفية للوجه السيتوبلازمي لمركب المسام النووية في الخلايا البشرية.

الأنسجة	العظام
المرض	الساركوما العظمية العظمية
موقع الانتشار	موقع الورم الأساسي (العظم)

التطبيقات

بيولوجيا الخيوط السيتوبلازمية لمركب المسام النووية؛ دور Nup358/RanBP2 في التصدير النووي بوساطة CRM1 دورة ؛ Ran GTPase مسار ؛ SUMO؛ ؛ بنية الوجه السيتوبلازمي SNAP Pulse-Chase تجميع المغزل الانقسامي؛ تتبع الجسيمات الفردية؛ الفحص المجهري فائق الدقة؛ التسمية باستخدام تقنية لمركب المسام النووية

التصنيف

كائن حي	إنسان
الجنس	أنثى
خصائص النمو	الملتزم
حالة الكائنات المعدلة وراثيًا	GMO-S1

تفاصيل حالة الكائنات المعدلة وراثيًا

GMO-S1: This human osteosarcoma cell line (U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2) contains a CRISPR-engineered SNAPf-Nup358/RanBP2 fusion enabling precise labeling of nuclear pore cytoplasmic fibrils. The modification is stably integrated. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

مستوى السلامة البيولوجية	1

الخصائص

المورفولوجيا	شبيه بالظهارة
نوع الخلية	الخلايا الظهارية (الساركوما العظمية)
زمن المضاعفة	حوالي 24 إلى 36 ساعة

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

المعرّفات

المرجع

U2OS-CRISPR-SNAPF-Nup358/RanBP2 (كتالوج سيتيون رقم 300663)

رقم التعريف الضريبي لدى NCBI	9606
سيلوصور	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
المودع	مختبر إلينبرغ (EMBL)

التعبير والقابلية للإصابة

التعبير البروتيني

Nup358/RanBP2, SNAPf-tag

التعامل مع النباتات وزراعتها

وسط الاستزراع

(رقم المادة 820200 أ) NaHCO3 مكويز 5 أ، ث: 3.0 جم/لتر جلوكوز، ث: جلوتامين مستقر، ث: 2.0 ملي مولار بيروفات الصوديوم، ث: 2.2 جم/لتر

بيئة الحضانة	37 درجة مئوية، و5% من ثاني أكسيد الكربون في جو مرطب.

المكملات الغذائية

10 أضف إلى الوسط ٪ FBS، ٪1 NEAA، NaHCO3 و3.0 جم/لتر جلوكوز، وغلوتامين مستقر، و2.0 ملي مولار من بيروفات الصوديوم، و2.2 جم/لتر

كاشف التفكك	أكوتاس

إعادة الاستنبات

استخدم 3-5 مل من T25، الذي يفتقر إلى الكالسيوم والمغنيسيوم. بالنسبة لقوارير PBS قم بإزالة الوسط القديم من الخلايا الملتصقة واغسلها باستخدام PBS، وبالنسبة لقوارير T75، دع T75 و2.5 مل لقوارير T25 استخدم 5-10 مل. ثم، قم بتغطية الخلايا بالكامل باستخدام أكوتاز، باستخدام 1-2 مل لقوارير T75. الخلايا تحتضن في درجة حرارة الغرفة لمدة 8-10 دقائق لفصلها. بعد الحضانة، اخلط الخلايا برفق مع 10 مل من الوسط لإعادة ترسيبها، ثم اطردها مركزيًا بسرعة 300 xg لمدة 3 دقائق. تخلص من المادة الطافية، وأعد غمر الخلايا في وسط جديد وانقلها إلى قوارير جديدة تحتوي بالفعل على وسط جديد.

نسبة التقسيم	من 1 إلى 3
كثافة البذر	من 1 إلى 3 × 10^4 خلية/$سم^2$
تجديد السوائل	إلى 3 مرات في الأسبوع 2

إذابة الثلج والزراعة

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.

مراقبة الجودة والحفظ بالتبريد

العقم

وطرق الكشف عن الميكوبلازما القائمة على (PCR) يُستبعد التلوث بالميكوبلازما باستخدام كل من المقايسات القائمة على تفاعل البوليميراز المتسلسل التألق.
ولضمان عدم وجود تلوث بكتيري أو فطري أو خميرة يتم إخضاع مزارع الخلايا للفحص البصري اليومي.

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

وسط التجميد	من أجل الحفاظ DMSO 10% + (FBS بما في ذلك) كوسيط للحفظ بالتبريد، نستخدم وسط نمو كامل والذي يتضمن مواد حماية ،(رقم Cytion 800100 كتالوج) CM-1 على حيوية كافية بعد ذوبان الجليد أو أسموزموبيروتيكتية ومثبتات أيضية مُحسّنة لتعزيز التعافي وتقليل الإجهاد الناجم عن التبريد.

شروط التخزين

للحفظ طويل الأمد، ضع القوارير في نيتروجين سائل في طور البخار عند درجة حرارة تتراوح بين -150 و -196 درجة مئوية تقريباً. يُقبل التخزين عند درجة حرارة -80 درجة مئوية فقط كخطوة مؤقتة قصيرة قبل النقل إلى النيتروجين السائل.

شروط الشحن

تُشحن خطوط الخلايا المحفوظة بالتبريد على ثلج جاف في عبوات معزولة وموثوقة مع مبرد كافٍ للحفاظ على درجة حرارة -78 درجة مئوية تقريبًا طوال فترة النقل. عند الاستلام، افحص الحاوية على الفور وانقل القوارير دون تأخير إلى المخزن المناسب.

المانح

عمر المتبرع	سنة 15
الأصل العرقي	قوقازي

الشؤون القانونية والسلامة

احتياطات السلامة

عند التخطيط لتخزين القارورة المبردة في النيتروجين السائل لإذابتها في المستقبل، من الضروري الالتزام بتدابير السلامة الصارمة. من الضروري ارتداء قفازات وملابس واقية مناسبة، كما يلزم استخدام قناع الوجه أو نظارات السلامة أثناء نقل العينات المجمدة من خزان النيتروجين السائل أو إليه. وذلك للتخفيف من خطر الإصابة من الانفجارات المحتملة للنيتروجين المبرد عند الإزالة، والتي يمكن أن تؤدي إلى قذف شظايا حادة.

الضمان

في Cytion، نلتزم في Cytion بجودة منتجاتنا وحيويتها.
نحن نضمن أن تكون خلايانا قابلة للحياة في بداية الاستزراع لمدة 60 يومًا بعد الشحن من منشآتنا.
نؤكد أن جميع المواد مطابقة للمواصفات الموضحة في شهادة التحليل و/أو ورقة المنتج
بيان الضمان<a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">للحصول على التفاصيل الكاملة، يُرجى الرجوع إلى

تسري اتفاقيات الأطراف الثالثة	Yes