U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2

300663

ΓΕΝΙΚΈΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΊΕΣ

Περιγραφή

Το U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 είναι μια γενετικά τροποποιημένη ανθρώπινη κυτταρική σειρά οστεοσαρκώματος που προέρχεται από κύτταρα U2OS, στα οποία ο ενδογενής τόπος RANBP2 (γνωστός και ως NUP358) έχει τροποποιηθεί με CRISPR/Cas9 για να κωδικοποιεί μια ετικέτα SNAPf σε πλαίσιο με την φυσική πρωτεΐνη. Το Nup358/RanBP2 είναι μια μεγάλη νουκλεοπρωτεΐνη που εντοπίζεται στα κυτταροπλασματικά νημάτια του πυρηνικού πόρου (NPC) και παίζει κρίσιμο ρόλο στη μεταφορά νουκλεοκυτταροπλασματικών, στη SUMOylation και στις μιτωτικές διεργασίες. Η ενδογενής σήμανση εξασφαλίζει ότι το SNAPf-Nup358 εκφράζεται υπό φυσιολογικό έλεγχο προαγωγού, διατηρώντας τα φυσικά επίπεδα έκφρασης και ελαχιστοποιώντας τα τεχνητά φαινόμενα που σχετίζονται με τα συστήματα υπερέκφρασης.
Η ετικέτα SNAPf είναι μια παραλλαγή ταχείας επισήμανσης της ετικέτας SNAP που συνδέεται ομοιοπολικά με υποστρώματα συζευγμένα με βενζυλογουανίνη, επιτρέποντας την επιλεκτική και σταθερή φθορίζουσα επισήμανση της Nup358 σε ζωντανά ή σταθερά κύτταρα. Στα κύτταρα U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2, η πρωτεΐνη σύντηξης εντοπίζεται στο πυρηνικό περίβλημα με μια χαρακτηριστική διάταξη σε σημεία που είναι χαρακτηριστική των κυτταροπλασματικών νηματίων NPC. Αυτή η διαμόρφωση υποστηρίζει απεικόνιση φθορισμού υψηλής ανάλυσης, μικροσκοπία υπερ-ανάλυσης, επισήμανση παλμού-κυνηγητού και προσεγγίσεις παρακολούθησης μονομοριακών μορίων για τη μελέτη της αρχιτεκτονικής και της δυναμικής του NPC. Η επίπεδη μορφολογία και οι μεγάλοι πυρήνες των κυττάρων U2OS διευκολύνουν περαιτέρω την ποσοτική απεικόνιση των δομών του πυρηνικού περιβλήματος.
Αυτό το μοντέλο επιτρέπει τη διερεύνηση των ειδικών ρόλων του Nup358 στην εξαρτώμενη από CRM1/εξπορτίνη πυρηνική εξαγωγή, στη ρύθμιση του κύκλου Ran GTPase και στην χωρική οργάνωση των κυτταροπλασματικών πλατφορμών μεταφοράς. Δεδομένης της συμμετοχής του Nup358 στη συναρμολόγηση του μιτωτικού άξονα και στη λειτουργία του κινητοχώρα, η κυτταρική σειρά είναι επίσης κατάλληλη για τη μελέτη της εξαρτώμενης από τον κυτταρικό κύκλο ανακατανομής των νουκλεοπορινών και της αποσυναρμολόγησης/επανασυναρμολόγησης του NPC κατά τη διάρκεια της μίτωσης. Το U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 παρέχει μια φυσιολογικά σχετική πλατφόρμα για την ανάλυση των δομικών και λειτουργικών πτυχών της κυτταροπλασματικής όψης του συμπλέγματος πυρηνικών πόρων σε ανθρώπινα κύτταρα.

Ιστός	Οστά
Ασθένεια	Οστεοσάρκωμα
Θέση μετάστασης	Θέση πρωτογενούς όγκου (οστό)

Εφαρμογές

Βιολογία των κυτταροπλασματικών νηματίων του συμπλέγματος των πυρηνικών πόρων· Nup358/RanBP2 στην πυρηνική εξαγωγή που μεσολαβείται από το CRM1· κύκλος της GTPάσης Ran· οδός SUMO· συναρμολόγηση του μιτωτικού άξονα· παρακολούθηση μεμονωμένων σωματιδίων· μικροσκοπία υπερ-ανάλυσης· σήμανση SNAP με τη μέθοδο «pulse-chase»· αρχιτεκτονική της κυτταροπλασματικής όψης του NPC

ΤΑΞΙΝΌΜΗΣΗ

Οργανισμός	Άνθρωπος
Σεξ	Γυναίκα
Ιδιότητες ανάπτυξης	Πιστός
Κατάσταση όσον αφορά τους ΓΤΟ	GMO-S1

Λεπτομέρειες σχετικά με την κατάσταση των ΓΤΟ

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.

Επίπεδο βιοασφάλειας	1

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

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΆ

Μορφολογία	Επιθηλιοειδής
Τύπος κυττάρου	Επιθηλιακά κύτταρα (οστεοσάρκωμα)
Χρόνος διπλασιασμού	περίπου 24 έως 36 ώρες

ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΤΙΚΆ

Παραπομπή

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 (αριθμός καταλόγου Cytion 300663)

Αριθμός φορολογικού μητρώου NCBI	9606
Κελλοσαύρος	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Καταθέτης	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)

ΈΚΦΡΑΣΗ ΚΑΙ ΕΥΑΙΣΘΗΣΊΑ

Έκφραση πρωτεϊνών

Nup358/RanBP2, ετικέτα SNAPf

ΧΕΙΡΙΣΜΌΣ ΚΑΙ ΚΑΛΛΙΈΡΓΕΙΑ

Θρεπτικό μέσο

McCoys 5a, w: 3,0 g/L γλυκόζη, w: σταθερή γλουταμίνη, w: 2,0 mM πυρουβικό νάτριο, w: 2,2 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820200a)

Ατμόσφαιρα επώασης	37°C, 5%CO2, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Συμπληρώματα

Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 3,0 g/L γλυκόζη, σταθερή γλουταμίνη, 2,0 mM πυρουβικό νάτριο, 2,2 g/L NaHCO3, 1% NEAA

Αντιδραστήριο αποσύνδεσης	Accutase

Αναπαραγωγή σε υποκαλλιέργεια

Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Αναλογία διαχωρισμού	1 έως 3
Πυκνότητα σποράς	1 έως 3 × 10^4 κύτταρα/cm^2
Ανανέωση υγρών	2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Απόψυξη και καλλιέργεια

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.

ΈΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΌΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΚΡΥΟΣΥΝΤΉΡΗΣΗ

Στειρότητα

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.
Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

Μέσο κατάψυξης	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Συνθήκες αποθήκευσης

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Όροι αποστολής

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

ΔΩΡΗΤΉΣ

Ηλικία δωρητή	15 χρόνια
Εθνικότητα	Καυκάσιος

ΝΟΜΙΚΆ ΘΈΜΑΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΆΛΕΙΑ

Μέτρα ασφαλείας

Όταν σχεδιάζετε να αποθηκεύσετε ένα κρυοφιαλίδιο σε υγρό άζωτο για μελλοντική απόψυξη, είναι υποχρεωτικό να τηρείτε αυστηρά μέτρα ασφαλείας. Τα κατάλληλα προστατευτικά γάντια και ο κατάλληλος προστατευτικός ρουχισμός είναι απαραίτητα, ενώ απαιτείται η χρήση μάσκας προσώπου ή γυαλιών ασφαλείας κατά τη μεταφορά κατεψυγμένων δειγμάτων προς ή από τη δεξαμενή υγρού αζώτου. Αυτό γίνεται για να μετριαστεί ο κίνδυνος τραυματισμού από πιθανές εκρήξεις κρυοσωλήνων κατά την απομάκρυνση, οι οποίες μπορεί να οδηγήσουν στην προβολή αιχμηρών θραυσμάτων.

Εγγύηση

Στην Cytion, υποστηρίζουμε την ποιότητα και τη βιωσιμότητα των προϊόντων μας.
Εγγυόμαστε ότι τα κύτταρά μας θα είναι βιώσιμα κατά την έναρξη της καλλιέργειας για 60 ημέρες μετά την αποστολή από τις εγκαταστάσεις μας.
Διαβεβαιώνουμε ότι όλα τα υλικά συμμορφώνονται με τις προδιαγραφές που περιγράφονται στο Πιστοποιητικό Ανάλυσης ή/και στο Φύλλο Προϊόντος
Για πλήρεις λεπτομέρειες, ανατρέξτε στην <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Δήλωση εγγύησης

Ισχύουν συμφωνίες με τρίτους	Yes