U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2

300663

ÁLTALÁNOS INFORMÁCIÓK

Leírás

Az U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 egy genomszerkesztett humán osteosarcoma sejtvonal, amely U2OS sejtekből származik, és amelyben az endogén RANBP2 (más néven NUP358) lókusz CRISPR/Cas9 segítségével módosításra került, hogy a natív fehérjével in-frame SNAPf tagot kódoljon. A Nup358/RanBP2 egy nagy nukleoporin, amely a nukleáris pórus komplex (NPC) citoplazmatikus filamentumaiban lokalizálódik, és kritikus szerepet játszik a nukleocitoplazmatikus transzportban, a SUMOylációban és a mitotikus folyamatokban. Az endogén címkézés biztosítja, hogy a SNAPf-Nup358 fiziológiai promóter kontroll alatt expresszálódjon, fenntartva a natív expressziós szinteket és minimalizálva a túlzott expressziós rendszerekkel kapcsolatos artefaktokat.
A SNAPf tag a SNAP-tag gyors jelölő változata, amely kovalens kötéssel kapcsolódik a benzilguanin-konjugált szubsztrátokhoz, lehetővé téve a Nup358 szelektív és stabil fluoreszcens jelölését élő vagy fixált sejtekben. Az U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 sejtekben a fúziós fehérje a citoplazmatikus NPC filamentumokra jellemző pontszerű eloszlásban lokalizálódik a sejtmag membránján. Ez a konfiguráció támogatja a nagy felbontású fluoreszcens képalkotást, a szuperfelbontású mikroszkópiát, a pulzus-üldözéses jelölést és az egyedi molekulák nyomon követését az NPC architektúrájának és dinamikájának tanulmányozása érdekében. Az U2OS sejtek lapos morfológiája és nagy magjai tovább megkönnyítik a magmembrán struktúráinak kvantitatív képalkotását.
Ez a modell lehetővé teszi a Nup358-specifikus szerepek vizsgálatát a CRM1/exportin-függő nukleáris exportban, a Ran GTPáz ciklus szabályozásában és a citoplazmatikus transzportplatformok térbeli szerveződésében. Tekintettel a Nup358 részvételére a mitotikus orsószerkezet összeállításában és a kinetokór funkciójában, a sejtvonal alkalmas a sejtciklus-függő nukleoporinek újraeloszlásának és az NPC szétszerelésének/újraösszeszerelésének vizsgálatára is a mitózis során. Az U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 fiziológiailag releváns platformot biztosít az emberi sejtekben található nukleáris pórus komplex citoplazmatikus felületének szerkezeti és funkcionális aspektusainak elemzéséhez.

Szövet	Csont
Betegség	Osteosarcoma
Áttétes hely	Az elsődleges daganat helye (csont)

Alkalmazások

A nukleáris póruskomplex citoplazmatikus szálainak biológiája; a Nup358/RanBP2 szerepe a CRM1 által közvetített nukleáris exportban; a Ran GTPáz ciklus; a SUMO-útvonal; a mitotikus orsó felépülése; egyrészecske-követés; szuperfelbontású mikroszkópia; SNAP-pulzus-üldözéses jelölés; az NPC citoplazmatikus felületének felépítése

OSZTÁLYOZÁS

Organizmus	Ember
Szex	Nő
Növekedési tulajdonságok	Hűséges
GMO-státusz	GMO-S1

A GMO-státuszra vonatkozó részletek

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.

Biológiai biztonsági szint	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

JELLEMZŐK

Morfológia	Epithelszerű
Sejttípus	Hámsejtek (osteosarcoma)
Kettőzési idő	kb. 24–36 óra

AZONOSÍTÓK

Hivatkozás

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 (Cytion katalógusszám 300663)

NCBI adóazonosító szám	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Betétes	Az Ellenberg Labor (EMBL)

KIFEJEZŐDÉS ÉS FOGÉKONYSÁG

Fehérjeexpresszió

Nup358/RanBP2, SNAPf-tag

KEZELÉS ÉS TENYÉSZTÉS

Táptalaj

McCoys 5a, w: 3,0 g/L glükóz, w: stabil glutamin, w: 2,0 mM nátrium-piruvát, w: 2,2 g/L NaHCO3 (Cytion cikkszám: 820200a)

Inkubációs környezet	37°C, 5%CO2, párásított légkör.

Kiegészítők

A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, 3,0 g/L glükózzal, stabil glutaminnal, 2,0 mM nátrium-piruváttal, 2,2 g/L NaHCO3-mal, 1% NEAA-val

Diszociációs reagens	Accutase

Átültetés

Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Osztási arány	1–3
Ültetési sűrűség	1–3 × 10^4 sejt/cm^2
Folyadékcsere	hetente 2-3 alkalommal

Felolvasztás és tenyésztés

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.

MINŐSÉGELLENŐRZÉS ÉS KRIOKONZERVÁLÁS

Meddőség

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

Fagyasztóközeg	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Tárolási feltételek

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Szállítási feltételek

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

ADOMÁNYOZÓ

Az adományozó életkora	15 év
Etnikai hovatartozás	Kaukázusi

JOGI ÉS BIZTONSÁGI INFORMÁCIÓK

Biztonsági óvintézkedések

Ha egy kriovialitást folyékony nitrogénben tervezünk tárolni a későbbi kiolvasztás céljából, akkor kötelező betartani a szigorú biztonsági intézkedéseket. A megfelelő védőkesztyű és védőruházat elengedhetetlen, és a fagyasztott minták folyékony nitrogéntartályba vagy a folyékony nitrogéntartályból történő átvitele során arcmaszk vagy védőszemüveg használata szükséges. Ez azért van, hogy csökkentsék a kriovialis anyagok eltávolításakor bekövetkező esetleges robbanásból eredő sérülésveszélyt, amely éles szilánkok kilövellését eredményezheti.

Garancia

A Cytionnál kiállunk termékeink minősége és életképessége mellett.
Garantáljuk, hogy sejtjeink a tenyésztés megkezdésekor életképesek lesznek, a létesítményünkből történő kiszállítás után 60 napig.
Biztosítjuk, hogy minden anyag megfelel az analitikai tanúsítványban és/vagy a terméklapon leírt specifikációknak
A teljes részleteket lásd <a href="""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang="""x-default"">Garancia nyilatkozatunkban

Harmadik felekkel kötött megállapodások érvényesek	Yes