U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2

300663

BENDRA INFORMACIJA

Aprašymas

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 yra genomo redaguota žmogaus osteosarkomos ląstelių linija, gauta iš U2OS ląstelių, kuriose endogeninis RANBP2 (taip pat žinomas kaip NUP358) lokusas buvo modifikuotas CRISPR/Cas9, kad koduotų SNAPf žymę, suderintą su natūraliu baltymu. Nup358/RanBP2 yra didelis nukleoporinas, lokalizuotas branduolinio porų komplekso (NPC) citoplazminiuose filamentuose ir atliekantis svarbų vaidmenį branduolinio-citoplazminio transporte, SUMOiliacijoje ir mitozės procesuose. Endogeninis žymėjimas užtikrina, kad SNAPf-Nup358 būtų ekspresuojamas fiziologinio promotoriaus kontrole, išlaikant natūralius ekspresijos lygius ir sumažinant artefaktus, susijusius su pernelyg didelės ekspresijos sistemomis.
SNAPf žymė yra greito žymėjimo SNAP žymės variantas, kuris kovalentiškai jungiasi su benzilguaninu konjuguotais substratais, leidžiantis selektyviai ir stabiliai fluorescenciniu būdu žymėti Nup358 gyvose arba fiksuotose ląstelėse. U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 ląstelėse jungtinis baltymas lokalizuojasi branduolinėje apvalkale, būdingoje citoplazminių NPC gijų punktualiai pasiskirstymui. Ši konfigūracija palaiko aukštos skiriamosios gebos fluorescencinį vaizdavimą, super skiriamosios gebos mikroskopiją, impulsų-persekiojimo žymėjimą ir vienos molekulės sekimo metodus, skirtus NPC architektūros ir dinamikos tyrimams. Plokščia morfologija ir dideli U2OS ląstelių branduoliai dar labiau palengvina branduolinės apvalkalo struktūrų kiekybinį vaizdavimą.
Šis modelis leidžia tirti Nup358 specifines funkcijas CRM1/eksportino priklausomame branduolinio eksporto procese, Ran GTPazės ciklo reguliacijoje ir citoplazminių transporto platformų erdvinėje organizacijoje. Atsižvelgiant į Nup358 dalyvavimą mitozinio verpstės surinkime ir kinetochoro funkcionavime, ląstelių linija taip pat tinka tirti ląstelių ciklo priklausomą nukleoporinų perskirstymą ir NPC išardymą/surinkimą mitozės metu. U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 suteikia fiziologiškai reikšmingą platformą žmogaus ląstelių branduolinio porų komplekso citoplazminės pusės struktūrinių ir funkcinių aspektų analizei.

Audinys	Kaulas
Liga	Osteosarkoma
Metastazių vieta	Pirminio naviko lokalizacija (kaulai)

Paraiškos

Branduolinio porų komplekso citoplazminių gijų biologija; Nup358/RanBP2 CRM1 reguliuojamame branduolinio eksporto procese; Ran GTPazės ciklas; SUMO kelias; mitozinio verpstės susidarymas; vienos dalelės sekimas; superrezoliucijos mikroskopija; SNAP „pulse-chase“ žymėjimas; NPC citoplazminės pusės architektūra

KLASIFIKACIJA

Organizmas	Žmogus
Seksas	Moteris
Augimo savybės	Prisijungęs
GMO statusas	GMO-S1

Išsami informacija apie GMO statusą

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.

Biologinio saugumo lygis	1

CHARAKTERISTIKOS

Morfologija	Į epitelį panašus

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

Ląstelių tipas	Epitelio ląstelės (osteosarkoma)
Laikas, per kurį skaičius padvigubėja	maždaug nuo 24 iki 36 valandų

IDENTIFIKATORIAI

Nuoroda

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 (Cytion katalogo numeris 300663)

NCBI mokesčių identifikavimo kodas	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Indėlininkas	Ellenbergo laboratorija (EMBL)

IŠRAIŠKA IR JAUTRUMAS

Baltojų baltymų ekspresija

Nup358/RanBP2, SNAPf žymuo

LAIKYMAS IR AUGINIMAS

Maitinamoji terpė

McCoys 5a, w: 3,0 g/l gliukozės, w: stabilus glutaminas, w: 2,0 mM natrio piruvatas, w: 2,2 g/l NaHCO3 (Cytion gaminio numeris 820200a)

Inkubacijos aplinka	37 °C, 5 %CO2, drėkintoje atmosferoje.

Maisto papildai

Papildykite terpę 10 % FBS, 3,0 g/l gliukozės, stabiliu glutaminu, 2,0 mM natrio piruvato, 2,2 g/l NaHCO3, 1 % NEAA

Disociacijos reagentas	Accutase

Subkultūrinis auginimas

Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Skaidymo santykis	1–3
Sėjos tankis	nuo 1 iki 3 × 10^4 ląstelių/cm^2
Skysčių atnaujinimas	2-3 kartus per savaitę

Atšildymas ir auginimas

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.

KOKYBĖS KONTROLĖ IR KRIOKONSERVAVIMAS

Sterilumas

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.
Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

Šaldymo terpė	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Laikymo sąlygos

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Pristatymo sąlygos

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

DONORAS

Donoro amžius	15 metų
Etninė priklausomybė	Kaukaziečių

TEISINIAI IR SAUGOS KLAUSIMAI

Saugos priemonės

Planuojant saugoti kriovaistinę skystame azote, kad ateityje ją būtų galima atšildyti, būtina laikytis griežtų saugos priemonių. Būtina mūvėti tinkamas apsaugines pirštines ir drabužius, o perkeliant užšaldytus mėginius į skystojo azoto talpyklą arba iš jos būtina naudoti veido kaukę arba apsauginius akinius. Taip siekiama sumažinti sužeidimų riziką dėl galimo kriokomponentų sprogimo išėmimo metu, kai gali išsiveržti aštrūs fragmentai.

Garantija

" Cytion" garantuoja savo produktų kokybę ir gyvybingumą.
Garantuojame, kad mūsų ląstelės bus gyvybingos kultūrų auginimo pradžioje 60 dienų po išsiuntimo iš mūsų gamyklos.
Užtikriname, kad visos medžiagos atitinka analizės sertifikate ir (arba) gaminio lape aprašytas specifikacijas
Išsamią informaciją rasite mūsų <a href=""/Kas mes esame/garantijos/" hreflang=""x-default"">Garantijos pareiškime

Taikomos susitarimai su trečiosiomis šalimis	Yes