U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2

300663

VŠEOBECNÉ INFORMÁCIE

Popis

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 je génovo upravená ľudská osteosarkómová bunková línia odvodená z buniek U2OS, v ktorej bol endogénny lokus RANBP2 (tiež známy ako NUP358) modifikovaný pomocou CRISPR/Cas9 tak, aby kódoval SNAPf tag v rámci natívneho proteínu. Nup358/RanBP2 je veľký nukleoporín lokalizovaný v cytoplazmatických filamentoch komplexu jadrových pórov (NPC) a hrá kľúčovú úlohu v nukleocytoplazmatickom transporte, SUMOylácii a mitotických procesoch. Endogénne značkovanie zabezpečuje, že SNAPf-Nup358 je exprimovaný pod fyziologickou kontrolou promotora, čím sa zachovávajú natívne hladiny expresie a minimalizujú sa artefakty spojené so systémami nadmernej expresie.
Značka SNAPf je variantom značky SNAP s rýchlym značením, ktorý kovalentne viaže substráty konjugované s benzylguanínom, čo umožňuje selektívne a stabilné fluorescenčné značenie Nup358 v živých alebo fixovaných bunkách. V bunkách U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 sa fúzny proteín lokalizuje do jadrovej membrány v bodkovitej distribúcii charakteristickej pre cytoplazmatické NPC filamenty. Táto konfigurácia podporuje vysokorozlíšiteľné fluorescenčné zobrazovanie, superrozlíšiteľnú mikroskopiu, pulzno-chase značenie a sledovanie jednotlivých molekúl na štúdium architektúry a dynamiky NPC. Plochá morfológia a veľké jadrá buniek U2OS ďalej uľahčujú kvantitatívne zobrazovanie štruktúr jadrovej membrány.
Tento model umožňuje skúmanie špecifických úloh Nup358 v CRM1/exportín-dependentnom jadrovom exporte, regulácii cyklu Ran GTPázy a priestorovej organizácii cytoplazmatických transportných platforiem. Vzhľadom na účasť Nup358 v mitotickom zoskupovaní vretien a funkcii kinetochóru je táto bunková línia vhodná aj na štúdium redistribúcie nukleoporínov závislej od bunkového cyklu a rozkladu/opätovného zoskupovania NPC počas mitózy. U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 poskytuje fyziologicky relevantnú platformu na rozbor štrukturálnych a funkčných aspektov cytoplazmatickej strany komplexu jadrových pórov v ľudských bunkách.

Tkanivo	Kosti
Choroba	Osteosarkóm
Miesto metastáz	Miesto primárneho nádoru (kosť)

Aplikácie

Biológia cytoplazmatických vlákien komplexu jadrových pórov; Nup358/RanBP2 pri jadrovom exporte sprostredkovanom CRM1; cyklus GTPázy Ran; SUMO dráha; zostavovanie mitotického vretena; sledovanie jednotlivých častíc; mikroskopia so superrozlíšením; značenie metódou SNAP pulse-chase; architektúra cytoplazmatickej strany komplexu jadrových pórov

KLASIFIKÁCIA

Organizmus	Človek
Sex	Žena
Rastové vlastnosti	Prívrženec
Stav GMO	GMO-S1

Podrobnosti o štatúte GMO

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.

Úroveň biologickej bezpečnosti	1

CHARAKTERISTIKY

Morfológia	Epitelu podobné

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

Typ bunky	Epitelové bunky (osteosarkóm)
Doba zdvojnásobenia	približne 24 až 36 hodín

IDENTIFIKÁTORY

Citácia

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup358/RanBP2 (katalógové číslo Cytion 300663)

Daňové identifikačné číslo NCBI	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Vkladateľ	Ellenbergova laboratória (EMBL)

PREJAV A NÁCHYLNOSŤ

Expresia proteínov

Nup358/RanBP2, značka SNAPf

MANIPULÁCIA A KULTIVÁCIA

Kultivačné médium

McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukóza, w: stabilný glutamín, w: 2,0 mM pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO3 (číslo článku Cytion 820200a)

Inkubačná atmosféra	37 °C, 5 %CO2, zvlhčená atmosféra.

Doplnky stravy

Doplňte médium o 10 % FBS, 3,0 g/l glukózy, stabilný glutamín, 2,0 mM pyruvát sodný, 2,2 g/l NaHCO3, 1 % NEAA

Disociačné činidlo	Accutase

Rozmnožovanie kultúr

Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstreďujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Pomer rozdelenia	1 až 3
Hustota výsevu	1 až 3 × 10^4 buniek/cm^2
Obnova kvapaliny	2 až 3-krát týždenne

Rozmrazovanie a kultivácia

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.

KONTROLA KVALITY A KRYOKONZERVÁCIA

Sterilita

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Mrazové médium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Podmienky skladovania

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Dopravné podmienky

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

DARCA

Vek darcu	15 rokov
Etnická príslušnosť	Kaukazský

PRÁVNE INFORMÁCIE A BEZPEČNOSŤ

Bezpečnostné opatrenia

Pri plánovaní uskladnenia kryovírusu v kvapalnom dusíku na budúce rozmrazenie je potrebné dodržiavať prísne bezpečnostné opatrenia. Vhodné ochranné rukavice a odev sú nevyhnutné a počas prenosu zmrazených vzoriek do nádrže s tekutým dusíkom alebo z nej sa vyžaduje používanie tvárovej masky alebo ochranných okuliarov. Je to z dôvodu zníženia rizika poranenia v dôsledku možnej explózie kryovírusu pri vyberaní, ktorá môže mať za následok vymrštenie ostrých úlomkov.

Záruka

V spoločnosti Cytion si stojíme za kvalitou a životaschopnosťou našich produktov.
Garantujeme, že naše bunky budú životaschopné na začiatku kultivácie počas 60 dní po odoslaní z našich zariadení.
Zaručujeme, že všetky materiály zodpovedajú špecifikáciám opísaným v certifikáte analýzy a/alebo v produktovom liste
Úplné informácie nájdete v našom <a href=""/Kto sme/záruka/"" hreflang=""x-default"">Vyhlásení o záruke

Platia zmluvy s tretími stranami	Yes