U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133

300666

ΓΕΝΙΚΈΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΊΕΣ

Περιγραφή

Το U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 είναι μια γενετικά τροποποιημένη ανθρώπινη κυτταρική σειρά οστεοσαρκώματος που προέρχεται από το γονικό υπόβαθρο U2OS, στο οποίο ο ενδογενής τόπος NUP133 έχει τροποποιηθεί χρησιμοποιώντας γονιδιακή επεξεργασία με τη μεσολάβηση CRISPR/Cas9 για την κωδικοποίηση μιας ετικέτας SNAPf C-τερματικού. Το NUP133 είναι ένα βασικό συστατικό του συμπλέγματος Y (σύμπλεγμα NUP107-160), ενός δομικού υποσυμπλέγματος απαραίτητου για τη συναρμολόγηση και τη συντήρηση του συμπλέγματος πυρηνικών πόρων (NPC). Με την εισαγωγή της αλληλουχίας κωδικοποίησης SNAPf στο ενδογενές locus, η πρωτεΐνη σύντηξης εκφράζεται υπό φυσιολογικό ρυθμιστικό έλεγχο, διατηρώντας τα φυσιολογικά επίπεδα έκφρασης και την υποκυτταρική εντοπισμό. Η ετικέτα SNAPf είναι μια παραλλαγή ταχείας επισήμανσης της ετικέτας SNAP, μιας μηχανικής O6-αλκυλογουανίνη-DNA αλκυλτρανσφεράσης που αντιδρά ομοιοπολικά με υποστρώματα συζευγμένα με βενζυλογουανίνη. Αυτό επιτρέπει την εξαιρετικά ειδική και ευέλικτη φθορίζουσα επισήμανση του Nup133 σε ζωντανά ή σταθερά κύτταρα χρησιμοποιώντας υποστρώματα SNAP διαπερατά ή αδιαπέραστα από τα κύτταρα. Στα κύτταρα U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133, η πρωτεΐνη σύντηξης εντοπίζεται στο πυρηνικό περίβλημα με ένα χαρακτηριστικό διάστικτο μοτίβο των πυρηνικών πόρων. Επειδή η σήμανση πραγματοποιείται στον ενδογενή τόπο, η στοιχειομετρία και η αρχιτεκτονική των NPC διαταράσσονται ελάχιστα, καθιστώντας αυτό το μοντέλο κατάλληλο για ποσοτική μικροσκοπία υπερ-ανάλυσης, παρακολούθηση μορίων και κινητικές αναλύσεις της συναρμολόγησης και της ανανέωσης των NPC.
Αυτή η κυτταρική σειρά παρέχει μια ισχυρή πλατφόρμα για τη μελέτη της πυρηνικής μεταφοράς, της δυναμικής της πυρηνικοκυτταρικής κυκλοφορίας, της βιογένεσης NPC κατά τη διάρκεια της μεσοφάσης και της μετα-μιτωτικής πυρηνικής ανασυγκρότησης, καθώς και της δομικής οργάνωσης του συμπλέγματος Y εντός του πλέγματος πόρων. Το υπόβαθρο U2OS προσφέρει επίπεδη μορφολογία και μεγάλους πυρήνες, διευκολύνοντας την απεικόνιση υψηλής ανάλυσης. Τα κύτταρα U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 είναι ιδιαίτερα κατάλληλα για πειράματα σήμανσης pulse-chase, συσχετιστική μικροσκοπία φωτός και ηλεκτρονίων, καθώς και προσεγγίσεις πολύχρωμης απεικόνισης σε συνδυασμό με επιπλέον ενδογενώς σημασμένες νουκλεοπ

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

Εφαρμογές

Βιολογία του συμπλέγματος των πυρηνικών πόρων (NPC)· Αρχιτεκτονική του συμπλέγματος Nup133/Y· βιογένεση του NPC· πυρηνοκυτταροπλασματική μεταφορά· μικροσκοπία υπερ-ανάλυσης (STORM/PALM/STED)· παρακολούθηση μεμονωμένων σωματιδίων· σήμανση SNAP με τη μέθοδο pulse-chase· συσχετιστική οπτική και ηλεκτρονική μικροσκοπία· ποσοτική στοιχειομετρία 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-Nup133) contains a CRISPR-introduced SNAPf-Nup133 fusion, enabling fluorescent tagging of the Nup133 nucleoporin. The insert is stably present. 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-Nup133 (αριθμός καταλόγου Cytion 300666)

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

Nup133, SNAPf-tag

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