U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133

300666

YLEISTÄ TIETOA

Kuvaus

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 on geneettisesti muunnettu ihmisen osteosarkoomasolulinja, joka on johdettu vanhemmasta U2OS-taustasta, jossa endogeeninen NUP133-lokus on muunnettu CRISPR/Cas9-välitteisellä genomin muokkauksella koodaamaan C-terminaalinen SNAPf-tunniste. NUP133 on Y-kompleksin (NUP107-160-kompleksi) ydinkomponentti, rakenteellinen alikompleksi, joka on välttämätön ydinporokompleksin (NPC) kokoamiselle ja ylläpitämiselle. Ottamalla SNAPf-koodaussekvenssin endogeeniseen lokukseen, fuusioproteiini ilmaistaan natiivin säätelyn alaisena, säilyttäen fysiologiset ilmentymistasot ja subcellulaarisen lokalisoinnin.
SNAPf-tag on SNAP-tagin nopea merkintävariantti, joka on muokattu O6-alkyyliguanidiini-DNA-alkyylitransferaasi, joka reagoi kovalenttisesti bentsyyliguanidiinikonjugoitujen substraattien kanssa. Tämä mahdollistaa Nup133:n erittäin spesifisen ja monipuolisen fluoresoivan merkinnän elävissä tai kiinnitetyissä soluissa käyttämällä soluja läpäiseviä tai läpäisemättömiä SNAP-substraatteja. U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133-soluissa fuusioproteiini lokalisoituu ydinvaipaan ydinporakomplekseille tyypillisellä pistekuvioisella tavalla. Koska merkintä tapahtuu endogeenisessä lokuksessa, NPC:n stoikiometria ja arkkitehtuuri häiriintyvät vain minimaalisesti, mikä tekee tästä mallista sopivan kvantitatiiviseen superresoluutiomikroskopiaan, yksittäisten molekyylien seurantaan ja NPC:n kokoonpanon ja kierron kineettisiin analyyseihin.
Tämä solulinja tarjoaa vankan alustan ydinkuljetuksen, nukleosytoplasmisen liikenteen dynamiikan, NPC:n biogeneesin interfasi- ja postmitotisen ydinkokoonpanon aikana sekä Y-kompleksin rakenteellisen organisoinnin huokosrakenteessa tutkimiseen. U2OS-tausta tarjoaa tasaisen morfologian ja suuret tumat, mikä helpottaa korkean resoluution kuvantamista. U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133-solut sopivat erityisen hyvin pulssin ja jäljityksen merkintäkokeisiin, korreloivaan valo- ja elektronimikroskopiaan sekä moniväriseen kuvantamiseen yhdessä muiden endogeenisesti merkittyjen nukleoporiinien tai kuljetustekijöiden kanssa.

Kudos	Luu
Sairaus	Osteosarkooma
Metastaasikohde	Ensisijainen kasvaimen sijainti (luu)

Sovellukset

Ydinporokompleksin (NPC) biologia; Nup133/Y-kompleksin rakenne; NPC:n biogeneesi; ydin-sytoplasmakuljetus; superresoluutiomikroskopia (STORM/PALM/STED); yksittäisten hiukkasten seuranta; pulssi-jahtaus-SNAP-leimaus; korreloiva valo- ja elektronimikroskopia; kvantitatiivinen NPC-stoikiometria

LUOKITTELU

Organismi	Ihminen
Sukupuoli	Nainen
Kasvuominaisuudet	Kiinnittynyt
GMO-status	GMO-S1

GMO-statuksen tiedot

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.

Bioturvallisuustaso	1

OMINAISUUDET

Morfologia	Epiteelin kaltainen

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

Solutyyppi	Epiteelisolut (osteosarkooma)
Kaksinkertaistumisaika	noin 24–36 tuntia

TUNNISTEET

Lähdeviite

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 (Cytionin luettelonumero 300666)

NCBI-verotunnus	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Tallettaja	Ellenbergin laboratorio (EMBL)

ILMENTYMINEN JA ALTTIUS

Proteiinin ilmentyminen

Nup133, SNAPf-tag

KÄSITTELY JA VILJELY

Viljelyalusta

McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukoosia, w: vakaa glutamiini, w: 2,0 mM natriumpyruvaattia, w: 2,2 g/l NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820200a)

Inkubaatioilma	37 °C, 5 %CO2, kostutettu ilmakehä.

Ravintolisät

Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä, 3,0 g/l glukoosilla, stabiililla glutamiinilla, 2,0 mM natriumpyruvaatilla, 2,2 g/l NaHCO3:lla, 1 % NEAA:lla

Dissosiaatioreagenssi	Accutase

Soluviljely

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Jakosuhde	1–3
Kylvötiheys	1–3 × 10^4 solua/cm^2
Nesteen uusiminen	2-3 kertaa viikossa

Sulatus ja viljely

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.

LAADUNVALVONTA JA KRYOSÄILYTYS

Hedelmättömyys

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.
Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

Jäädytysaine	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Säilytysolosuhteet

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Toimitusehdot

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

LAHJOITTAJA

Luovuttajan ikä	15 vuotta
Etnisyys	Kaukasialainen

OIKEUDELLISET JA TURVALLISUUSASIAT

Turvallisuusohjeet

Kun suunnitellaan kryoputken säilyttämistä nestemäisessä typessä sulatusta varten, on noudatettava tiukkoja turvatoimenpiteitä. Asianmukaiset suojakäsineet ja -vaatteet ovat välttämättömiä, ja kasvonaamarin tai suojalasien käyttö on välttämätöntä siirrettäessä jäädytettyjä näytteitä nestetyppisäiliöön tai siitä pois. Tällä pyritään pienentämään loukkaantumisriskiä, joka aiheutuu kryoputkien mahdollisista räjähdyksistä, jotka voivat aiheuttaa terävien sirpaleiden sinkoutumisen.

Takuu

Me Cytionilla seisomme tuotteidemme laadun ja elinkelpoisuuden takana.
Takaamme, että solumme ovat elinkelpoisia viljelyn alkaessa 60 päivän ajan sen jälkeen, kun ne on lähetetty laitoksestamme.
Vakuutamme, että kaikki materiaalit ovat analyysitodistuksessa ja/tai tuoteselosteessa kuvattujen eritelmien mukaisia
Lisätietoja on <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Takuulausumassa

Sovelletaan kolmansien osapuolten kanssa tehtyjä sopimuksia	Yes