U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133

300666

GENERAL INFORMATION

Description

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 הוא קו תאים של אוסטאוסרקומה אנושית מהונדסת גנטית, שמקורו ברקע ההורי U2OS, שבו לוקוס NUP133 האנדוגני הוא מרכיב מרכזי במתחם Y (NUP107-160), שונה באמצעות עריכת גנום בתיווך CRISPR/Cas9 כדי לקודד תגית SNAPf C-terminal. NUP133 בתוך המסגרת בלוקוס האנדוגני, על ידי החדרת רצף הקוד של SNAPf, תת-מתחם מבני חיוני להרכבה ולתחזוקה של מתחם נקבוביות גרעיניות (NPC). החלבון הממוזג מבוטא תחת בקרה רגולטורית טבעית, תוך שמירה על רמות ביטוי פיזיולוגיות ולוקליזציה תת-תאית.
התג SNAPf הוא גרסה מהירה לסימון של התג SNAP, O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase מהונדס המגיב קוולנטית עם מצעים מצומדים חדירים או אטומים לתאים. SNAP בתאים חיים או קבועים באמצעות מצעי Nup133 לבנזילגואנין. זה מאפשר סימון פלואורסצנטי ספציפי ורב-תכליתי של החלבון הממוזג מתמקם במעטפת הגרעין בתבנית נקודתית האופיינית למתחמי נקבוביות גרעיניות. מכיוון U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133, בתאי מופרעות במינימום, מה שהופך מודל זה למתאים למיקרוסקופיה כמותית NPC שהתיוג מתרחש בלוקוס האנדוגני, הסטוכיומטריה והארכיטקטורה של ברזולוציה גבוהה, מעקב אחר מולקולה בודדת וניתוחים קינטיים של הרכבת NPC ותחלופתו.
במהלך שלב הביניים והרכבה מחדש NPC קו תאים זה מספק פלטפורמה איתנה לחקר הובלה גרעינית, דינמיקת תנועה גרעינית-ציטופלזמית, ביוגנזה של מציע מורפולוגיה שטוחה וגרעינים גדולים, מה שמקל על U2OS-בתוך שלד הנקבוביות. רקע ה Y של הגרעין לאחר המיטוזה, וארגון מבני של קומפלקס מתאימים במיוחד לניסויי תיוג פולס-צ'ייס, מיקרוסקופיה קורלטיבית של אור ואלקטרונים, U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 הדמיה ברזולוציה גבוהה. תאי וגישות הדמיה רב-צבעיות בשילוב עם נוקליופורינים או גורמי הובלה מתויגים אנדוגנית נוספים.

Tissue	עצם
Disease	אוסטאוסרקומה
Metastatic site	מיקום הגידול הראשוני (עצם)

Applications

ביולוגיה של קומפלקס הנקבוביות הגרעיניות (NPC); ארכיטקטורת Nup133/Y-complex; ביוגנזה של NPC; מיקרוסקופיה; הובלה גרעינית-ציטופלזמית; מיקרוסקופיה קורלטיבית של אור ואלקטרונים; pulse-chase בשיטת SNAP מעקב אחר חלקיקים בודדים; תיוג ברזולוציה-על (STORM/PALM/STED); סטויכיומטריה כמותית של NPC

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

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.

Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	דמוי אפיתל
Cell type	תאי אפיתל (אוסטאוסרקומה)
Doubling time	כ-24 עד 36 שעות

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

IDENTIFIERS

Citation

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 (מספר קטלוגי Cytion 300666)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Depositor	מעבדת אלנברג (EMBL)

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

Nup133, SNAPf-tag

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

McCoys 5a, w: 3.0 g/L גלוקוז, w: יציב גלוטמין, w: 2.0 mM נתרן פירובט, w: 2.2 g/L NaHCO3 (מספר פריט Cytion 820200a)

Incubation atmosphere	37°C, 5%CO2, אווירה לחה.

Supplements

10% הוסף לתמיסה FBS, 3.0 גרם/ליטר גלוקוז, גלוטמין יציב, 2.0 מ"מ נתרן פירובט, 2.2 גרם/ליטר NaHCO3, 1% NEAA

Dissociation reagent	אקוטאז

Subculturing

הסר את המדיום הישן מהתאים הדבוקים ושטוף אותם ב-PBS ללא סידן ומגנזיום. עבור בקבוקי T25, השתמש ב-3-5 מ"ל PBS, ועבור בקבוקי T75, השתמש ב-5-10 מ"ל. לאחר מכן, כסה את התאים לחלוטין ב-Accutase, תוך שימוש ב-1-2 מ"ל עבור בקבוקי T25 ו-2.5 מ"ל עבור בקבוקי T75. השאר את התאים לדגירה בטמפרטורת החדר למשך 8-10 דקות כדי לנתק אותם. לאחר הדגירה, ערבב בעדינות את התאים עם 10 מ"ל של מדיום כדי להחזיר אותם לתמיסה, ואז סובב בצנטריפוגה ב-300xg למשך 3 דקות. השלך את הנוזל העליון, החזר את התאים לתמיסה במדיום טרי והעבר אותם לצלחות חדשות שכבר מכילות מדיום טרי.

Split ratio	1 עד 3
Seeding density	1 עד 3 × 10⁴ תאים/סמ"ר
Fluid renewal	2 עד 3 פעמים בשבוע

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

זיהום במיקופלסמה נשלל באמצעות בדיקות מבוססות PCR לומניסצנציה מבוססות מיקופלסמה ושיטות זיהוי.
כדי להבטיח שאין זיהום חיידקי, פטרייתי או שמרי, תרבויות התאים עוברות בדיקות ויזואליות יומיות.

Freeze medium	כדי להבטיח 10% DMSO + (FBS כולל) כמדיום לשימור בקירור, אנו משתמשים במדיום גידול מלא הכולל חומרים אוסמו- ,(Cytion 800100 מספר קטלוגי) CM-1 חיוניות נאותה לאחר ההפשרה, או מגנים ומייצבי מטבוליזם משופרים כדי לשפר את ההתאוששות ולהפחית את הלחץ הנגרם מהקפאה.

Storage conditions

לשימור לטווח ארוך, יש להניח את הבקבוקונים בחנקן נוזלי במצב של אדי בטמפרטורה של כ-150 עד 196 מעלות צלזיוס. אחסון בטמפרטורה של 80 מעלות צלזיוס מקובל רק כצעד ביניים קצר לפני העברה לחנקן נוזלי.

Shipping conditions

במהלך -Cשורות תאים שהוקפאו נשלחות בקרח יבש באריזה מאושרת ומבודדת עם כמות מספקת של חומר קירור כדי לשמור על טמפרטורה של כ-78°. ההובלה. עם קבלת המשלוח, יש לבדוק את המכל מיד ולהעביר את הבקבוקונים ללא דיחוי לאחסון מתאים.

DONOR

Donor age	שנים 15
Ethnicity	קווקזי

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

כאשר מתכננים לאחסן קריוביאל בחנקן נוזלי להפשרה עתידית, חובה להקפיד על אמצעי בטיחות מחמירים. יש להקפיד על שימוש בכפפות ובבגדים מגנים מתאימים, וכן על שימוש במסכת פנים או משקפי מגן בעת העברת דגימות קפואות אל מיכל החנקן הנוזלי או ממנו. זאת כדי להפחית את הסיכון לפציעה כתוצאה מפיצוץ אפשרי של הקריוביאל בעת הוצאתו, העלול לגרום להתזת רסיסים חדים.

Warranty

אנו עומדים מאחורי האיכות והכדאיות של המוצרים שלנו, ב-Cytion.
אנו מבטיחים שתאינו יהיו קיימים בתחילת התרבית למשך
60 יום לאחר המשלוח מהמתקנים שלנו.
אנו מבטיחים שכל החומרים תואמים למפרטים המתוארים
בתעודת הניתוח ו/או בדף המוצר.
לפרטים מלאים, אנא עיינו ב
הצהרת האחריות שלנו<a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">

Third-party agreements apply	Yes

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