U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133

300666

ÁLTALÁNOS INFORMÁCIÓK

Leírás

Az U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 egy géntechnológiával módosított humán osteosarcoma sejtvonal, amely az U2OS szülői háttérből származik, és amelyben az endogén NUP133 lókuszt CRISPR/Cas9-mediált genomszerkesztéssel módosították, hogy C-terminális SNAPf tagot kódoljon. A NUP133 a Y-komplex (NUP107-160 komplex) központi komponense, amely egy strukturális alkomplex, amely elengedhetetlen a nukleáris pórus komplex (NPC) összeállításához és fenntartásához. A SNAPf kódoló szekvencia endogén lókuszba történő beépítésével a fúziós fehérje natív szabályozási kontroll alatt expresszálódik, megőrizve a fiziológiai expressziós szinteket és a szubcelluláris lokalizációt.
A SNAPf tag a SNAP-tag gyors jelölő változata, egy módosított O6-alkilguanin-DNS-alkil-transzferáz, amely kovalens reakcióba lép a benzilguanin-konjugált szubsztrátokkal. Ez lehetővé teszi a Nup133 rendkívül specifikus és sokoldalú fluoreszcens jelölését élő vagy fixált sejtekben, sejtáteresztő vagy sejtáteresztő SNAP szubsztrátok felhasználásával. Az U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 sejtekben a fúziós fehérje a nukleáris pórus komplexekre jellemző pontszerű mintázatban lokalizálódik a sejtmag membránján. Mivel a jelölés az endogén lókuszban történik, az NPC sztöchiometriája és architektúrája minimálisan zavart, így ez a modell alkalmas kvantitatív szuperfelbontású mikroszkópiára, egyedi molekulák nyomon követésére, valamint az NPC összeszerelésének és cseréjének kinetikai elemzésére.
Ez a sejtvonal robusztus platformot biztosít a nukleáris transzport, a nukleocitoplazmatikus transzport dinamikájának, az NPC biogenezisének az interfázis és a posztmitotikus nukleáris újrarendezés során, valamint a Y-komplex szerkezeti szerveződésének a pórusvázon belül történő tanulmányozásához. Az U2OS háttér lapos morfológiát és nagy magokat kínál, ami megkönnyíti a nagy felbontású képalkotást. Az U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 sejtek különösen alkalmasak pulzus-üldözéses jelölési kísérletekhez, korrelatív fény- és elektronmikroszkópiához, valamint többszínű képalkotási módszerekhez, további endogén jelöléssel ellátott nukleoporinekkel vagy transzportfaktorokkal kombinálva.

Szövet	Csont
Betegség	Osteosarcoma
Áttétes hely	Az elsődleges daganat helye (csont)

Alkalmazások

A nukleáris póruskomplex (NPC) biológiája; a Nup133/Y-komplex felépítése; az NPC biogenezise; a nukleocitoplazmatikus transzport; szuperfelbontású mikroszkópia (STORM/PALM/STED); egyes részecskék nyomon követése; pulzus-üldözéses SNAP-jelölés; korrelatív fény- és elektronmikroszkópia; az NPC kvantitatív sztöchiometriája

OSZTÁLYOZÁS

Organizmus	Ember
Szex	Nő
Növekedési tulajdonságok	Hűséges
GMO-státusz	GMO-S1

A GMO-státuszra vonatkozó részletek

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.

Biológiai biztonsági szint	1

JELLEMZŐK

Morfológia	Epithelszerű

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

Sejttípus	Hámsejtek (osteosarcoma)
Kettőzési idő	kb. 24–36 óra

AZONOSÍTÓK

Hivatkozás

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 (Cytion katalógusszám: 300666)

NCBI adóazonosító szám	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Betétes	Az Ellenberg Labor (EMBL)

KIFEJEZŐDÉS ÉS FOGÉKONYSÁG

Fehérjeexpresszió

Nup133, SNAPf-tag

KEZELÉS ÉS TENYÉSZTÉS

Táptalaj

McCoys 5a, w: 3,0 g/L glükóz, w: stabil glutamin, w: 2,0 mM nátrium-piruvát, w: 2,2 g/L NaHCO3 (Cytion cikkszám: 820200a)

Inkubációs környezet	37°C, 5%CO2, párásított légkör.

Kiegészítők

A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, 3,0 g/L glükózzal, stabil glutaminnal, 2,0 mM nátrium-piruváttal, 2,2 g/L NaHCO3-mal, 1% NEAA-val

Diszociációs reagens	Accutase

Átültetés

Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Osztási arány	1–3
Ültetési sűrűség	1–3 × 10^4 sejt/cm^2
Folyadékcsere	hetente 2-3 alkalommal

Felolvasztás és tenyésztés

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.

MINŐSÉGELLENŐRZÉS ÉS KRIOKONZERVÁLÁS

Meddőség

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

Fagyasztóközeg	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Tárolási feltételek

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Szállítási feltételek

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

ADOMÁNYOZÓ

Az adományozó életkora	15 év
Etnikai hovatartozás	Kaukázusi

JOGI ÉS BIZTONSÁGI INFORMÁCIÓK

Biztonsági óvintézkedések

Ha egy kriovialitást folyékony nitrogénben tervezünk tárolni a későbbi kiolvasztás céljából, akkor kötelező betartani a szigorú biztonsági intézkedéseket. A megfelelő védőkesztyű és védőruházat elengedhetetlen, és a fagyasztott minták folyékony nitrogéntartályba vagy a folyékony nitrogéntartályból történő átvitele során arcmaszk vagy védőszemüveg használata szükséges. Ez azért van, hogy csökkentsék a kriovialis anyagok eltávolításakor bekövetkező esetleges robbanásból eredő sérülésveszélyt, amely éles szilánkok kilövellését eredményezheti.

Garancia

A Cytionnál kiállunk termékeink minősége és életképessége mellett.
Garantáljuk, hogy sejtjeink a tenyésztés megkezdésekor életképesek lesznek, a létesítményünkből történő kiszállítás után 60 napig.
Biztosítjuk, hogy minden anyag megfelel az analitikai tanúsítványban és/vagy a terméklapon leírt specifikációknak
A teljes részleteket lásd <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Garancia nyilatkozatunkban

Harmadik felekkel kötött megállapodások érvényesek	Yes