U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133

300666

BENDRA INFORMACIJA

Aprašymas

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 yra genetiškai modifikuota žmogaus osteosarkomos ląstelių linija, gauta iš tėvinės U2OS linijos, kurioje endogeninis NUP133 lokusas buvo modifikuotas naudojant CRISPR/Cas9 mediatorių genomo redagavimą, kad būtų užkoduotas C-terminalinis SNAPf žymeklis. NUP133 yra pagrindinis Y-komplekso (NUP107-160 kompleksas) komponentas, struktūrinis subkompleksas, būtinas branduolinio porų komplekso (NPC) surinkimui ir palaikymui. Įvedant SNAPf kodavimo seką į endogeninį lokusą, jungtinis baltymas yra ekspresuojamas pagal natūralią reguliacinę kontrolę, išlaikant fiziologinius ekspresijos lygius ir subceliulinę lokalizaciją.
SNAPf žymė yra greito žymėjimo variantas SNAP žymės, inžinerinio O6-alkilguanino-DNR alkiltransferazės, kuri kovalentiškai reaguoja su benzilguaninu konjuguotais substratais. Tai leidžia labai specifiškai ir įvairiapusiškai fluorescenciniu būdu žymėti Nup133 gyvose arba fiksuotose ląstelėse, naudojant ląstelių pralaidžius arba nepralaidžius SNAP substratus. U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 ląstelėse jungtinis baltymas lokalizuojasi branduolinėje apvalkale, būdingame branduolinių porų kompleksams. Kadangi žymėjimas vyksta endogeniniame lokuse, NPC stechiometrija ir architektūra yra minimaliai sutrikdyta, todėl šis modelis tinka kiekybinei superrezoliucijos mikroskopijai, vienos molekulės sekimui ir NPC surinkimo bei apykaitos kinetinei analizei.
Ši ląstelių linija suteikia tvirtą platformą branduolinio transporto, branduolinio-citoplazminio transporto dinamikos, NPC biogenezės interfazės metu ir postmitotinio branduolinio surinkimo bei Y-komplekso struktūrinės organizacijos porų karkase tyrimams. U2OS fonas pasižymi plokščia morfologija ir dideliais branduoliais, palengvinančiais aukštos skiriamosios gebos vaizdų gavimą. U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 ląstelės ypač tinka impulsų-persekiojimo žymėjimo eksperimentams, koreliatyvinei šviesos ir elektronų mikroskopijai bei daugiakolorėms vaizdų gavimo metodikoms, derinamoms su papildomais endogeniškai pažymėtais nukleoporinais arba transporto veiksniais.

Audinys	Kaulas
Liga	Osteosarkoma
Metastazių vieta	Pirminio naviko lokalizacija (kaulai)

Paraiškos

Branduolinio porų komplekso (NPC) biologija; Nup133/Y komplekso struktūra; NPC biogenezė; branduolio ir citoplazmos transportas; superrezoliucijos mikroskopija (STORM/PALM/STED); atskirų dalelių sekimas; impulsinis SNAP žymėjimas; koreliacinė šviesos ir elektronų mikroskopija; kiekybinė NPC stechiometrija

KLASIFIKACIJA

Organizmas	Žmogus
Seksas	Moteris
Augimo savybės	Prisijungęs
GMO statusas	GMO-S1

Išsami informacija apie GMO statusą

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.

Biologinio saugumo lygis	1

CHARAKTERISTIKOS

Morfologija	Į epitelį panašus

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

Ląstelių tipas	Epitelio ląstelės (osteosarkoma)
Laikas, per kurį skaičius padvigubėja	maždaug nuo 24 iki 36 valandų

IDENTIFIKATORIAI

Nuoroda

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 (Cytion katalogo numeris 300666)

NCBI mokesčių identifikavimo kodas	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Indėlininkas	Ellenbergo laboratorija (EMBL)

IŠRAIŠKA IR JAUTRUMAS

Baltojų baltymų ekspresija

Nup133, SNAPf žymuo

LAIKYMAS IR AUGINIMAS

Maitinamoji terpė

McCoys 5a, w: 3,0 g/l gliukozės, w: stabilus glutaminas, w: 2,0 mM natrio piruvatas, w: 2,2 g/l NaHCO3 (Cytion gaminio numeris 820200a)

Inkubacijos aplinka	37 °C, 5 %CO2, drėkintoje atmosferoje.

Maisto papildai

Papildykite terpę 10 % FBS, 3,0 g/l gliukozės, stabiliu glutaminu, 2,0 mM natrio piruvato, 2,2 g/l NaHCO3, 1 % NEAA

Disociacijos reagentas	Accutase

Subkultūrinis auginimas

Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Skaidymo santykis	1–3
Sėjos tankis	nuo 1 iki 3 × 10^4 ląstelių/cm^2
Skysčių atnaujinimas	2-3 kartus per savaitę

Atšildymas ir auginimas

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.

KOKYBĖS KONTROLĖ IR KRIOKONSERVAVIMAS

Sterilumas

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.
Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

Šaldymo terpė	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Laikymo sąlygos

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Pristatymo sąlygos

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

DONORAS

Donoro amžius	15 metų
Etninė priklausomybė	Kaukaziečių

TEISINIAI IR SAUGOS KLAUSIMAI

Saugos priemonės

Planuojant saugoti kriovaistinę skystame azote, kad ateityje ją būtų galima atšildyti, būtina laikytis griežtų saugos priemonių. Būtina mūvėti tinkamas apsaugines pirštines ir drabužius, o perkeliant užšaldytus mėginius į skystojo azoto talpyklą arba iš jos būtina naudoti veido kaukę arba apsauginius akinius. Taip siekiama sumažinti sužeidimų riziką dėl galimo kriokomponentų sprogimo išėmimo metu, kai gali išsiveržti aštrūs fragmentai.

Garantija

" Cytion" garantuoja savo produktų kokybę ir gyvybingumą.
Garantuojame, kad mūsų ląstelės bus gyvybingos kultūrų auginimo pradžioje 60 dienų po išsiuntimo iš mūsų gamyklos.
Užtikriname, kad visos medžiagos atitinka analizės sertifikate ir (arba) gaminio lape aprašytas specifikacijas
Išsamią informaciją rasite mūsų <a href=""/Kas mes esame/garantijos/" hreflang=""x-default"">Garantijos pareiškime

Taikomos susitarimai su trečiosiomis šalimis	Yes