U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133

300666

VŠEOBECNÉ INFORMÁCIE

Popis

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 je geneticky modifikovaná ľudská osteosarkómová bunková línia odvodená z rodičovského pozadia U2OS, v ktorej bol endogénny lokus NUP133 modifikovaný pomocou editovania genómu sprostredkovaného CRISPR/Cas9 tak, aby kódoval C-terminálnu značku SNAPf. NUP133 je základnou zložkou Y-komplexu (komplex NUP107-160), štrukturálneho subkomplexu, ktorý je nevyhnutný pre zostavenie a udržanie komplexu jadrových pórov (NPC). Zavedením kódujúcej sekvencie SNAPf do endogénneho lokusu sa fúzny proteín exprimuje pod pôvodnou regulačnou kontrolou, čím sa zachovávajú fyziologické hladiny expresie a subcelulárna lokalizácia. Značka SNAPf je variantom rýchleho značenia SNAP-značky, umelo vytvorenej O6-alkylguanín-DNA alkyltransferázy, ktorá kovalentne reaguje s benzylguanínom konjugovanými substrátmi. To umožňuje vysoko špecifické a univerzálne fluorescenčné značenie Nup133 v živých alebo fixovaných bunkách pomocou bunkovo priepustných alebo nepriepustných SNAP substrátov. V bunkách U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 sa fúzny proteín lokalizuje do jadrovej membrány v bodkovitom vzore charakteristickom pre jadrové pórové komplexy. Keďže značkovanie prebieha na endogénnom mieste, stechiometria a architektúra NPC sú minimálne narušené, čo robí tento model vhodným pre kvantitatívnu mikroskopiu s vysokým rozlíšením, sledovanie jednotlivých molekúl a kinetické analýzy zostavovania a obratu NPC.
Táto bunková línia poskytuje robustnú platformu na štúdium jadrového transportu, dynamiky nukleocytoplazmatického transportu, biogenézy NPC počas interfázy a postmitotickej jadrovej reorganizácie a štrukturálnej organizácie Y-komplexu v rámci pórovitej kostry. Pozadie U2OS ponúka plochú morfológiu a veľké jadrá, čo uľahčuje zobrazovanie s vysokým rozlíšením. Bunky U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 sú obzvlášť vhodné pre experimenty s pulzno-chase značením, korelačnú svetelnú a elektrónovú mikroskopiu a multicolorové zobrazovacie prístupy v kombinácii s ďalšími endogénne značenými nukleoporínmi alebo transportnými faktormi.

Tkanivo	Kosti
Choroba	Osteosarkóm
Miesto metastáz	Miesto primárneho nádoru (kosť)

Aplikácie

Biológia komplexu jadrových pórov (NPC); architektúra komplexu Nup133/Y; biogenéza NPC; nukleocytoplazmatický transport; mikroskopia s vysokým rozlíšením (STORM/PALM/STED); sledovanie jednotlivých častíc; pulzno-chase SNAP značenie; korelačná svetelná a elektrónová mikroskopia; kvantitatívna stechiometria NPC

KLASIFIKÁCIA

Organizmus	Človek
Sex	Žena
Rastové vlastnosti	Prívrženec
Stav GMO	GMO-S1

Podrobnosti o štatúte GMO

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.

Úroveň biologickej bezpečnosti	1

CHARAKTERISTIKY

Morfológia	Epitelu podobné

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

Typ bunky	Epitelové bunky (osteosarkóm)
Doba zdvojnásobenia	približne 24 až 36 hodín

IDENTIFIKÁTORY

Citácia

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 (katalógové číslo Cytion 300666)

Daňové identifikačné číslo NCBI	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Vkladateľ	Ellenbergova laboratória (EMBL)

PREJAV A NÁCHYLNOSŤ

Expresia proteínov

Nup133, SNAPf-tag

MANIPULÁCIA A KULTIVÁCIA

Kultivačné médium

McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukóza, w: stabilný glutamín, w: 2,0 mM pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO3 (číslo článku Cytion 820200a)

Inkubačná atmosféra	37 °C, 5 %CO2, zvlhčená atmosféra.

Doplnky stravy

Doplňte médium o 10 % FBS, 3,0 g/l glukózy, stabilný glutamín, 2,0 mM pyruvát sodný, 2,2 g/l NaHCO3, 1 % NEAA

Disociačné činidlo	Accutase

Rozmnožovanie kultúr

Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstreďujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Pomer rozdelenia	1 až 3
Hustota výsevu	1 až 3 × 10^4 buniek/cm^2
Obnova kvapaliny	2 až 3-krát týždenne

Rozmrazovanie a kultivácia

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.

KONTROLA KVALITY A KRYOKONZERVÁCIA

Sterilita

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Mrazové médium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Podmienky skladovania

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Dopravné podmienky

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

DARCA

Vek darcu	15 rokov
Etnická príslušnosť	Kaukazský

PRÁVNE INFORMÁCIE A BEZPEČNOSŤ

Bezpečnostné opatrenia

Pri plánovaní uskladnenia kryovírusu v kvapalnom dusíku na budúce rozmrazenie je potrebné dodržiavať prísne bezpečnostné opatrenia. Vhodné ochranné rukavice a odev sú nevyhnutné a počas prenosu zmrazených vzoriek do nádrže s tekutým dusíkom alebo z nej sa vyžaduje používanie tvárovej masky alebo ochranných okuliarov. Je to z dôvodu zníženia rizika poranenia v dôsledku možnej explózie kryovírusu pri vyberaní, ktorá môže mať za následok vymrštenie ostrých úlomkov.

Záruka

V spoločnosti Cytion si stojíme za kvalitou a životaschopnosťou našich produktov.
Garantujeme, že naše bunky budú životaschopné na začiatku kultivácie počas 60 dní po odoslaní z našich zariadení.
Zaručujeme, že všetky materiály zodpovedajú špecifikáciám opísaným v certifikáte analýzy a/alebo v produktovom liste
Úplné informácie nájdete v našom <a href=""/Kto sme/záruka/"" hreflang=""x-default"">Vyhlásení o záruke

Platia zmluvy s tretími stranami	Yes