U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133

300666

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

Опис

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 — це генетично модифікована лінія клітин остеосаркоми людини, отримана з батьківської лінії U2OS, в якій ендогенний локус NUP133 був модифікований за допомогою редагування геному за допомогою CRISPR/Cas9 для кодування C-кінцевого тегу SNAPf. NUP133 є основним компонентом Y-комплексу (комплекс NUP107-160), структурного субкомплексу, необхідного для складання та підтримки ядерного пористого комплексу (NPC). Шляхом введення кодуючої послідовності SNAPf в ендогенний локус, фузійний білок експресується під нативним регуляторним контролем, зберігаючи фізіологічні рівні експресії та субклітинну локалізацію.
Мітка SNAPf є варіантом швидкого маркування мітки SNAP, інженерно сконструйованої O6-алкілгуанін-ДНК-алкілтрансферази, яка ковалентно реагує з бензилгуанін-кон'югованими субстратами. Це дозволяє здійснювати високоспецифічне та універсальне флуоресцентне маркування Nup133 у живих або фіксованих клітинах за допомогою клітинно-проникних або непроникних субстратів SNAP. У клітинах U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 фузійний білок локалізується в ядерній оболонці у вигляді крапчастих утворень, характерних для ядерних пористих комплексів. Оскільки мічення відбувається в ендогенному локусі, стехіометрія та архітектура NPC мінімально порушуються, що робить цю модель придатною для кількісної мікроскопії надвисокої роздільної здатності, відстеження окремих молекул та кінетичного аналізу складання та обороту NPC.
Ця клітинна лінія забезпечує надійну платформу для вивчення ядерного транспорту, динаміки ядерно-цитоплазматичного трафіку, біогенезу NPC під час інтерфази та постмітотичного ядерного перезбирання, а також структурної організації Y-комплексу в пористій каркасній структурі. Фон U2OS забезпечує плоску морфологію та великі ядра, що полегшує отримання зображень з високою роздільною здатністю. Клітини U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 особливо добре підходять для експериментів з міткою імпульс-переслідування, кореляційної світлової та електронної мікроскопії, а також багатоколірних методів візуалізації в поєднанні з додатковими ендогенно міченими нуклеопоринами або транспортними факторами.

Тканина	Кость
Хвороба	Остеосаркома
Місце метастазування	Локалізація первинної пухлини (кістка)

Застосування

Біологія ядерно-порового комплексу (NPC); архітектура комплексу Nup133/Y; біогенез NPC; ядерно-цитоплазматичний транспорт; мікроскопія надвисокої роздільної здатності (STORM/PALM/STED); відстеження окремих частинок; мічення методом «пульс-чейз» за допомогою SNAP; кореляційна світлова та електронна мікроскопія; кількісна стехіометрія NPC

КЛАСИФІКАЦІЯ

Організм	Людина
Секс	Жінка
Характеристики росту	Прихильник
Статус ГМО	GMO-S1

Детальна інформація щодо статусу ГМО

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.

Рівень біобезпеки	1

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

ХАРАКТЕРИСТИКИ

Морфологія	Епітеліальноподібні
Тип клітини	Епітеліальні клітини (остеосаркома)
Час подвоєння	приблизно від 24 до 36 годин

ІДЕНТИФІКАТОРИ

Посилання

U2OS-CRISPR-SNAPf-Nup133 (номер за каталогом Cytion 300666)

Ідентифікаційний номер платника податків NCBI	9606
Целозавр	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Вкладник	Лабораторія Елленберга (EMBL)

ЕКСПРЕСІЯ ТА СПРИЙНЯТЛИВІСТЬ

Експресія білків

Nup133, SNAPf-тег

ОБРОБКА ТА ВИРОЩУВАННЯ

Живильне середовище

McCoys 5a, w: 3,0 г/л Глюкоза, w: стабільна Глютамін, w: 2,0 мМ Піруват натрію, w: 2,2 г/л NaHCO3 (Cytion article number 820200a)

Атмосфера інкубації	37°C, 5% CO2, волога атмосфера.

Добавки

Додайте до середовища 10% FBS, 3,0 г/л глюкози, стабільний глютамін, 2,0 мМ пірувату натрію, 2,2 г/л NaHCO3, 1% NEAA

Реагент для дисоціації	Аккутаза

Пересадка в нове середовище

Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Коефіцієнт розподілу	від 1 до 3
Щільність висіву	від 1 до 3 × 10^4 клітин/$см^2$
Оновлення рідини	2-3 рази на тиждень

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

Розморожування та культивування

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.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ТА КРІОКОНСЕРВАЦІЯ

Стерильність

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

Середовище для заморожування	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Умови зберігання

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Умови доставки

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

ДОНОР

Вік донора	15 років
Етнічна приналежність	Кавказець

ПРАВОВІ ПИТАННЯ ТА БЕЗПЕКА

Заходи безпеки

Плануючи зберігати кріовіал у рідкому азоті для подальшого розморожування, обов'язково слід дотримуватися суворих заходів безпеки. Під час перенесення заморожених зразків до резервуара з рідким азотом або з нього необхідно використовувати захисні рукавички та одяг, а також маску або захисні окуляри. Це необхідно для того, щоб зменшити ризик травмування від потенційних кріогенних вибухів при вилученні, які можуть призвести до розльоту гострих осколків.

Гарантія

У Cytion ми відповідаємо за якість та життєздатність нашої продукції.
Ми гарантуємо, що наші клітини будуть життєздатними на початку культивування протягом 60 днів після відвантаження з нашого заводу.
Ми запевняємо, що всі матеріали відповідають специфікаціям, описаним у сертифікаті аналізу та/або паспорті продукту
Для отримання більш детальної інформації, будь ласка, зверніться до нашого Заяви про гарантію

Діють угоди з третіми сторонами	Yes