U2OS-CRISPR-TPR-SNAP

300667

ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

Описание

U2OS-CRISPR-TPR-SNAP е геномно редактирана човешка остеосаркомна клетъчна линия, получена от U2OS клетки, в които ендогенният TPR (Translocated Promoter Region) ген е модифициран с помощта на CRISPR/Cas9 технология, за да кодира SNAP таг в рамката. TPR е голям спираловиден нуклеопорин, който се локализира в ядрената кошница от нуклеоплазмената страна на ядрения порен комплекс (NPC). Чрез маркиране на TPR в ендогенния му локус, фузионният протеин се експресира под естествен регулаторен контрол, запазвайки физиологичните нива на експресия и поддържайки правилното вграждане в структурата на ядрената кошница.
SNAP тагът позволява ковалентно маркиране на TPR с бензилгуанин-конюгирани флуоресцентни субстрати в живи или фиксирани клетки, което позволява високоспецифична и стабилна визуализация. В U2OS-CRISPR-TPR-SNAP клетки маркираният TPR показва характерно точково разпределение, подобно на пръстен, в ядрената мембрана, съответстващо на NPC-асоциираните структури на ядрената кошница. Тази система е подходяща за количествена флуоресцентна микроскопия, изображения със суперразделителна способност, маркиране с импулсно преследване и динамични изследвания на сглобяването и обновяването на ядрената кошница. Плоската морфология и големите ядра на U2OS клетките улесняват изображенията с висока разделителна способност на структурите, свързани с ядрената мембрана.
TPR играе критична роля в износа на мРНК, регулирането на ядрения транспорт, организацията на хроматина в периферията на ядрото и пространствената организация на генома. TPR също така участва в образуването на подкомпартаменти, свързани с ядрения транспорт, и в изключването на хетерохроматина от областите, свързани с ядрените пори. U2OS-CRISPR-TPR-SNAP предоставя физиологично релевантен модел за разлагане на архитектурата и динамиката на ядрената кошница, изследване на механизмите на ядрено-цитоплазмен транспорт и изучаване на взаимодействията на хроматина, свързани с ядрената мембрана, при ендогенни условия на експресия.

Тъкан	Bone
Заболяване	Остеосарком
Място на метастазите	Локация на първичния тумор (кост)

Приложения

Биология на ядрената кошница; TPR-медииран износ на мРНК; регулация на ядрено-цитоплазмения транспорт; организация на хроматина в периферията на ядрото; подкомпартаменти на ядрения транспорт; пространствена организация на генома; микроскопия със свръхвисока разделителна способност; маркиране чрез SNAP „пулс-чейс“; изключване на хетерохроматина от области, свързани с порите

КЛАСИФИКАЦИЯ

Организъм	Човек
Секс	Женски
Свойства, свързани с растежа	Привърженик
Статус на ГМО	GMO-S1

Подробности относно статуса на ГМО

GMO-S1: This human osteosarcoma cell line (U2OS-CRISPR-TPR-SNAP) contains a CRISPR-engineered TPR-SNAP fusion enabling fluorescent and chemical labeling of the TPR nuclear basket protein. The construct is stably integrated. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Ниво на биологична безопасност	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

Морфология	Подобни на епител
Тип клетка	Епителни клетки (остеосаркома)
Време за удвояване	приблизително 24 до 36 часа

ИДЕНТИФИКАТОРИ

Източник

U2OS-CRISPR-TPR-SNAP (каталожен номер 300667 на Cytion)

Данъчен идентификационен номер в NCBI	9606
Целозавър	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Вложител	Лабораторията на Елънбърг (EMBL)

ПРОЯВА И ПРЕДРАЗПОЛОЖЕНОСТ

Експресия на протеини

TPR, SNAP-таг

ОБРАБОТКА И ОТГЛЕЖДАНЕ

Хранителна среда

McCoys 5a, w: 3,0 g/L глюкоза, w: стабилен глутамин, w: 2,0 mM натриев пируват, w: 2,2 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820200a)

Атмосфера за инкубация	37°C, 5%CO2, овлажнена атмосфера.

Добавки

Допълнете средата с 10% FBS, 3,0 g/L глюкоза, стабилен глутамин, 2,0 mM натриев пируват, 2,2 g/L NaHCO3, 1% NEAA

Реагент за дисоциация	Accutase

Пресаждане

Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Коефициент на разделяне	от 1 до 3
Плътност на засяването	от 1 до 3 × 10^4 клетки/$см^2$
Обновяване на течността	2 до 3 пъти седмично

Размразяване и култивиране

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.

КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО И КРИОКОНСЕРВАЦИЯ

Стерилност

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.
За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

Среда за замразяване	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Условия за съхранение

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Условия за доставка

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

ДАРИТЕЛ

Възраст на донора	15 години
Етническа принадлежност	Кавказки

ПРАВНИ ВЪПРОСИ И БЕЗОПАСНОСТ

Мерки за безопасност

Когато планирате да съхранявате криопрепарат в течен азот за бъдещо размразяване, е задължително да спазвате строги мерки за безопасност. Подходящите защитни ръкавици и облекло са от съществено значение, а по време на прехвърлянето на замразени проби към или от резервоара с течен азот е необходимо да се използва маска за лице или предпазни очила. Това се прави, за да се намали рискът от нараняване от потенциални експлозии на криовиолите при изваждането им, които могат да доведат до изхвърляне на остри фрагменти.

Гаранция

Ние в Cytion заставаме зад качеството и жизнеспособността на нашите продукти.
Гарантираме, че нашите клетки ще бъдат жизнеспособни в началото на култивирането в продължение на 60 дни след изпращането им от нашите съоръжения.
Гарантираме, че всички материали отговарят на спецификациите, описани в сертификата за анализ и/или продуктовата листа
За пълни подробности, моля, направете справка с нашата <a href=""/Кои сме ние/Гаранция/"" hreflang=""x-default"">Гаранционна декларация

Прилагат се споразумения с трети страни	Yes