U2OS-CRISPR-TPR-SNAP

300667

OBECNÉ INFORMACE

Popis

U2OS-CRISPR-TPR-SNAP je genomově editovaná lidská osteosarkomová buněčná linie odvozená z buněk U2OS, ve které byl endogenní gen TPR (Translocated Promoter Region) modifikován pomocí technologie CRISPR/Cas9 tak, aby kódoval in-frame SNAP tag. TPR je velký nukleoporin s vinutou strukturou, který se lokalizuje do jaderného koše na nukleoplazmatické straně jaderného pórového komplexu (NPC). Označením TPR v jeho endogenním lokusu se fúzní protein exprimuje pod nativní regulační kontrolou, čímž se zachovávají fyziologické úrovně exprese a udržuje se správné začlenění do struktury jaderného koše.
SNAP tag umožňuje kovalentní značení TPR fluorescenčními substráty konjugovanými s benzylguaninem v živých nebo fixovaných buňkách, což umožňuje vysoce specifickou a stabilní vizualizaci. V buňkách U2OS-CRISPR-TPR-SNAP vykazuje značený TPR charakteristické tečkovité prstencové rozložení na jaderné obálce, které odpovídá strukturám jaderného koše asociovaných s NPC. Tento systém je vhodný pro kvantitativní fluorescenční mikroskopii, superrozlišovací zobrazování, značení pulzním sledováním a dynamické studie sestavování a obměny jaderného koše. Plochá morfologie a velká jádra buněk U2OS usnadňují vysokorozlišovací zobrazování struktur asociovaných s jadernou obálkou.
TPR hraje klíčovou roli v exportu mRNA, regulaci jaderného transportu, organizaci chromatinu na jaderném obvodu a prostorové organizaci genomu. TPR se také podílí na tvorbě subkompartmentů souvisejících s jaderným transportem a na vyloučení heterochromatinu z oblastí spojených s jadernými póry. U2OS-CRISPR-TPR-SNAP poskytuje fyziologicky relevantní model pro rozbor architektury a dynamiky jaderného koše, zkoumání mechanismů nukleocytoplazmatického transportu a studium interakcí chromatinu spojených s jadernou membránou za endogenních expresních podmínek.

Tkáň	Kost
Nemoc	Osteosarkom
Místo metastázy	Místo primárního nádoru (kost)

Aplikace

Biologie jaderného koše; export mRNA zprostředkovaný TPR; regulace transportu mezi jádrem a cytoplazmou; organizace chromatinu na okraji jádra; subkompartmenty jaderného transportu; prostorová organizace genomu; mikroskopie se superrozlišením; značení metodou SNAP pulse-chase; vyloučení heterochromatinu z oblastí spojených s póry

KLASIFIKACE

Organismus	Člověk
Sex	Žena
Růstové vlastnosti	Přívrženec
Stav GMO	GMO-S1

Podrobnosti o statusu GMO

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.

Úroveň biologické bezpečnosti	1

CHARAKTERISTIKA

Morfologie	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 buňky	Epitelové buňky (osteosarkom)
Doba zdvojnásobení	přibližně 24 až 36 hodin

IDENTIFIKÁTORY

Citace

U2OS-CRISPR-TPR-SNAP (katalogové číslo Cytion 300667)

Daňové identifikační číslo NCBI	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Vkladatel	Ellenbergova laboratoř (EMBL)

EXPRESE A NÁCHYLNOST

Exprese proteinů

TPR, SNAP-tag

MANIPULACE A CHOV

Pěstovací médium

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

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

Doplňky stravy

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

Disociační činidlo	Accutase

Subkultivace

Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Poměr rozdělení	1 až 3
Hustota výsevu	1 až 3 × 10^4 buněk/cm^2
Obnova tekutin	2 až 3krát týdně

Rozmrazování a kultivace

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 KRYOKONZERVACE

Sterilita

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Mrazicí médium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Podmínky skladování

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Dopravní podmínky

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

DÁRCE

Věk dárce	15 let
Etnická příslušnost	Kavkazský

PRÁVNÍ INFORMACE A BEZPEČNOSTNÍ POKYNY

Bezpečnostní opatření

Při plánování uložení kryovialu v kapalném dusíku pro budoucí rozmrazení je nutné dodržovat přísná bezpečnostní opatření. Nezbytné jsou vhodné ochranné rukavice a oděv a při přenášení zmrazených vzorků do nádrže s kapalným dusíkem nebo z ní je nutné používat obličejovou masku nebo ochranné brýle. To proto, aby se snížilo riziko zranění v důsledku možných výbuchů kryovialů při jejich vyjímání, které mohou mít za následek vystřelování ostrých úlomků.

Záruka

Ve společnosti Cytion si stojíme za kvalitou a životaschopností našich produktů.
Zaručujeme, že naše buňky budou životaschopné na začátku kultivace po dobu 60 dnů po odeslání z našich zařízení.
Zaručujeme, že všechny materiály odpovídají specifikacím popsaným v certifikátu analýzy a/nebo v produktovém listu
Úplné informace naleznete v našem <a href=""/Kdo-jsme/Záruka/"" hreflang=""x-default"">Záručním prohlášení

Platí smlouvy s třetími stranami	Yes