U2OS-CRISPR-TPR-SNAP

300667

GENERELLE OPLYSNINGER

Beskrivelse

U2OS-CRISPR-TPR-SNAP er en genomredigeret human osteosarkomcellelinje afledt af U2OS-celler, hvor det endogene TPR-gen (Translocated Promoter Region) er blevet modificeret ved hjælp af CRISPR/Cas9-teknologi til at kode for et in-frame SNAP-tag. TPR er et stort coiled-coil-nukleoporin, der lokaliseres til kernekurven på den nukleoplasmatiske side af kerneporekomplekset (NPC). Ved at mærke TPR på dets endogene locus udtrykkes fusionsproteinet under naturlig regulatorisk kontrol, hvilket bevarer fysiologiske ekspressionsniveauer og opretholder korrekt inkorporering i kernekurvstrukturen.
SNAP-tagget muliggør kovalent mærkning af TPR med benzylguanin-konjugerede fluorescerende substrater i levende eller fiksede celler, hvilket giver mulighed for højt specifik og stabil visualisering. I U2OS-CRISPR-TPR-SNAP-celler viser mærket TPR en karakteristisk punktformet ringlignende fordeling ved kernehinden, svarende til NPC-associerede nukleare kurvstrukturer. Dette system er velegnet til kvantitativ fluorescensmikroskopi, superopløsningsbilleddannelse, puls-chase-mærkning og dynamiske studier af nuklear kurvsamling og omsætning. Den flade morfologi og de store kerner i U2OS-celler letter højopløsningsbilleddannelse af kernehindeassocierede strukturer. TPR spiller en afgørende rolle i mRNA-eksport, regulering af nuklear transport, kromatinorganisation ved kerneperiferien og rumlig genomorganisation. TPR er også impliceret i dannelsen af nukleare transportrelaterede underkompartimenter og i udelukkelsen af heterokromatin fra nukleare porerelaterede regioner. U2OS-CRISPR-TPR-SNAP udgør en fysiologisk relevant model til at analysere arkitekturen og dynamikken i nukleare kurve, undersøge nukleocytoplasmatiske transportmekanismer og studere nukleare membranrelaterede kromatininteraktioner under endogene ekspressionsbetingelser.

Væv	Knogle
Sygdom	Osteosarkom
Metastasested	Primær tumorlokalisation (knogle)

Anvendelser

Kernekurvbiologi; TPR-medieret mRNA-eksport; regulering af transporten mellem kerne og cytoplasma; kromatinorganisering ved kernens periferi; underkompartimenter for kernetransport; genomets rumlige organisering; superopløsningsmikroskopi; SNAP-pulse-chase-mærkning; udelukkelse af heterokromatin fra poreassocierede områder

KLASSIFICERING

Organisme	Menneske
Køn	Kvinde
Vækstegenskaber	Tilhænger
GMO-status	GMO-S1

Oplysninger om GMO-status

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.

Biosikkerhedsniveau	1

EGENSKABER

Morfologi	Epitel-lignende
Celletype	Epithelceller (osteosarkom)

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

Fordoblingstid	ca. 24 til 36 timer

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

U2OS-CRISPR-TPR-SNAP (Cytion katalognummer 300667)

NCBI-skattenummer	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Indskyder	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

UDTRYK OG MODTAGELIGHED

Proteinekspression

TPR, SNAP-tag

HÅNDTERING OG OPDRÆT

Næringsmedium

McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glukose, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820200a)

Inkubationsatmosfære	37°C, 5%CO2, befugtet atmosfære.

Kosttilskud

Suppler mediet med 10 % FBS, 3,0 g/L glukose, stabil glutamin, 2,0 mM natriumpyruvat, 2,2 g/L NaHCO3, 1 % NEAA

Dissociationsreagens	Accutase

Oddyrkning

Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Opdelingsforhold	1 til 3
Såtæthed	1 til 3 × 10^4 celler/cm^2
Væskeudskiftning	2 til 3 gange om ugen

Optøning og dyrkning

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.

KVALITETSKONTROL OG KRYOPRÆSERVERING

Sterilitet

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

Frysemedium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Opbevaringsbetingelser

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Leveringsbetingelser

Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

DONOR

Donorens alder	15 år
Etnisk tilhørsforhold	Kaukasisk

JURIDISKE FORHOLD OG SIKKERHED

Sikkerhedsforanstaltninger

Når man planlægger at opbevare et kryovæske i flydende nitrogen med henblik på fremtidig optøning, er det obligatorisk at overholde strenge sikkerhedsforanstaltninger. Passende beskyttelseshandsker og -tøj er afgørende, og der skal bruges ansigtsmaske eller sikkerhedsbriller under overførslen af frosne prøver til eller fra tanken med flydende nitrogen. Dette er for at mindske risikoen for skader fra potentielle kryovæskeeksplosioner ved fjernelse, som kan resultere i projektion af skarpe fragmenter.

Garanti

Hos Cytion står vi inde for vores produkters kvalitet og levedygtighed.
Vi garanterer, at vores celler vil være levedygtige ved kulturens start i 60 dage efter afsendelse fra vores faciliteter.
Vi sikrer, at alle materialer er i overensstemmelse med de specifikationer, der er beskrevet i analysecertifikatet og/eller produktarket
For alle detaljer henvises til vores <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Der gælder aftaler med tredjeparter	Yes