U2OS-CRISPR-TPR-SNAP

300667

ΓΕΝΙΚΈΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΊΕΣ

Περιγραφή

Το U2OS-CRISPR-TPR-SNAP είναι μια γενετικά τροποποιημένη ανθρώπινη κυτταρική σειρά οστεοσαρκώματος που προέρχεται από κύτταρα U2OS, στα οποία το ενδογενές γονίδιο TPR (Translocated Promoter Region) έχει τροποποιηθεί χρησιμοποιώντας την τεχνολογία CRISPR/Cas9 για την κωδικοποίηση μιας ετικέτας SNAP εντός πλαισίου. Το TPR είναι μια μεγάλη νουκλεοπρωτεΐνη με σπειροειδή δομή που εντοπίζεται στο πυρηνικό καλάθι στην πυρηνοπλασματική πλευρά του πυρηνικού πόρου (NPC). Με την επισήμανση του TPR στον ενδογενή του τόπο, η πρωτεΐνη σύντηξης εκφράζεται υπό φυσιολογικό ρυθμιστικό έλεγχο, διατηρώντας τα φυσιολογικά επίπεδα έκφρασης και τη σωστή ενσωμάτωση στη δομή του πυρηνικού καλαθιού.
Η ετικέτα SNAP επιτρέπει την ομοιοπολική επισήμανση του TPR με υποστρώματα φθορισμού συζευγμένα με βενζυλογουανίνη σε ζωντανά ή σταθερά κύτταρα, επιτρέποντας εξαιρετικά συγκεκριμένη και σταθερή οπτικοποίηση. Στα κύτταρα U2OS-CRISPR-TPR-SNAP, η επισημασμένη TPR εμφανίζει μια χαρακτηριστική διάταξη σε μορφή δακτυλίου στο πυρηνικό περίβλημα, που αντιστοιχεί στις δομές του πυρηνικού καλαθιού που σχετίζονται με το NPC. Αυτό το σύστημα είναι κατάλληλο για ποσοτική φθορισμού μικροσκοπία, απεικόνιση υπερ-ανάλυσης, επισήμανση παλμού-κυνηγητού και δυναμικές μελέτες της συναρμολόγησης και της ανανέωσης του πυρηνικού καλαθιού. Η επίπεδη μορφολογία και οι μεγάλοι πυρήνες των κυττάρων U2OS διευκολύνουν την απεικόνιση υψηλής ανάλυσης των δομών που σχετίζονται με το πυρηνικό περίβλημα.
Το TPR διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην εξαγωγή mRNA, στη ρύθμιση της πυρηνικής μεταφοράς, στην οργάνωση της χρωματίνης στην περιφέρεια του πυρήνα και στην χωρική οργάνωση του γονιδιώματος. Το TPR εμπλέκεται επίσης στη διαμόρφωση υποδιαμερισμάτων που σχετίζονται με την πυρηνική μεταφορά και στον αποκλεισμό της ετεροχρωματίνης από περιοχές που σχετίζονται με τους πυρηνικούς πόρους.
Το U2OS-CRISPR-TPR-SNAP παρέχει ένα φυσιολογικά σχετικό μοντέλο για την ανάλυση της αρχιτεκτονικής και της δυναμικής του πυρηνικού καλαθιού, τη διερεύνηση των μηχανισμών πυρηνοκυτταρικής μεταφοράς και τη μελέτη των αλληλεπιδράσεων της χρωματίνης που σχετίζονται με το πυρηνικό περίβλημα υπό ενδογενείς συνθήκες έκφρασης.

Ιστός	Οστά
Ασθένεια	Οστεοσάρκωμα
Θέση μετάστασης	Θέση πρωτογενούς όγκου (οστό)

Εφαρμογές

Βιολογία του πυρηνικού καλαθιού· εξαγωγή mRNA με τη μεσολάβηση της TPR· ρύθμιση της πυρηνοκυτταροπλασματικής μεταφοράς· οργάνωση της χρωματίνης στην περιφέρεια του πυρήνα· υποδιαμερίσματα πυρηνικής μεταφοράς· χωρική οργάνωση του γονιδιώματος· μικροσκοπία υπερ-ανάλυσης· σήμανση SNAP με τη μέθοδο pulse-chase· αποκλεισμός της ετεροχρωματίνης από περιοχές που σχετίζονται με πόρους

ΤΑΞΙΝΌΜΗΣΗ

Οργανισμός	Άνθρωπος
Σεξ	Γυναίκα
Ιδιότητες ανάπτυξης	Πιστός
Κατάσταση όσον αφορά τους ΓΤΟ	GMO-S1

Λεπτομέρειες σχετικά με την κατάσταση των ΓΤΟ

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.

Επίπεδο βιοασφάλειας	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

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΆ

Μορφολογία	Επιθηλιοειδής
Τύπος κυττάρου	Επιθηλιακά κύτταρα (οστεοσάρκωμα)
Χρόνος διπλασιασμού	περίπου 24 έως 36 ώρες

ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΤΙΚΆ

Παραπομπή

U2OS-CRISPR-TPR-SNAP (αριθμός καταλόγου Cytion 300667)

Αριθμός φορολογικού μητρώου NCBI	9606
Κελλοσαύρος	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Καταθέτης	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)

ΈΚΦΡΑΣΗ ΚΑΙ ΕΥΑΙΣΘΗΣΊΑ

Έκφραση πρωτεϊνών

TPR, SNAP-tag

ΧΕΙΡΙΣΜΌΣ ΚΑΙ ΚΑΛΛΙΈΡΓΕΙΑ

Θρεπτικό μέσο

McCoys 5a, w: 3,0 g/L γλυκόζη, w: σταθερή γλουταμίνη, w: 2,0 mM πυρουβικό νάτριο, w: 2,2 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820200a)

Ατμόσφαιρα επώασης	37°C, 5%CO2, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Συμπληρώματα

Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 3,0 g/L γλυκόζη, σταθερή γλουταμίνη, 2,0 mM πυρουβικό νάτριο, 2,2 g/L NaHCO3, 1% NEAA

Αντιδραστήριο αποσύνδεσης	Accutase

Αναπαραγωγή σε υποκαλλιέργεια

Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Αναλογία διαχωρισμού	1 έως 3
Πυκνότητα σποράς	1 έως 3 × 10^4 κύτταρα/cm^2
Ανανέωση υγρών	2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Απόψυξη και καλλιέργεια

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.

ΈΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΌΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΚΡΥΟΣΥΝΤΉΡΗΣΗ

Στειρότητα

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.
Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

Μέσο κατάψυξης	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Συνθήκες αποθήκευσης

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Όροι αποστολής

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

ΔΩΡΗΤΉΣ

Ηλικία δωρητή	15 χρόνια
Εθνικότητα	Καυκάσιος

ΝΟΜΙΚΆ ΘΈΜΑΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΆΛΕΙΑ

Μέτρα ασφαλείας

Όταν σχεδιάζετε να αποθηκεύσετε ένα κρυοφιαλίδιο σε υγρό άζωτο για μελλοντική απόψυξη, είναι υποχρεωτικό να τηρείτε αυστηρά μέτρα ασφαλείας. Τα κατάλληλα προστατευτικά γάντια και ο κατάλληλος προστατευτικός ρουχισμός είναι απαραίτητα, ενώ απαιτείται η χρήση μάσκας προσώπου ή γυαλιών ασφαλείας κατά τη μεταφορά κατεψυγμένων δειγμάτων προς ή από τη δεξαμενή υγρού αζώτου. Αυτό γίνεται για να μετριαστεί ο κίνδυνος τραυματισμού από πιθανές εκρήξεις κρυοσωλήνων κατά την απομάκρυνση, οι οποίες μπορεί να οδηγήσουν στην προβολή αιχμηρών θραυσμάτων.

Εγγύηση

Στην Cytion, υποστηρίζουμε την ποιότητα και τη βιωσιμότητα των προϊόντων μας.
Εγγυόμαστε ότι τα κύτταρά μας θα είναι βιώσιμα κατά την έναρξη της καλλιέργειας για 60 ημέρες μετά την αποστολή από τις εγκαταστάσεις μας.
Διαβεβαιώνουμε ότι όλα τα υλικά συμμορφώνονται με τις προδιαγραφές που περιγράφονται στο Πιστοποιητικό Ανάλυσης ή/και στο Φύλλο Προϊόντος
Για πλήρεις λεπτομέρειες, ανατρέξτε στην <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Δήλωση εγγύησης

Ισχύουν συμφωνίες με τρίτους	Yes