U2OS-CRISPR-TPR-SNAP

300667

GENERAL INFORMATION

Description

U2OS-CRISPR-TPR-SNAP הוא קו תאים של אוסטאוסרקומה אנושית שעבר עריכת גנום, שמקורו בתאי U2OS, בהם הגן האנדוגני TPR (Translocated Promoter Region) הוא נוקליופורין גדול בעל מבנה סליל כפול, שונה באמצעות טכנולוגיית CRISPR/Cas9 כדי לקודד תגית SNAP בתוך המסגרת TPR. בלוקוס האנדוגני שלו, החלבון הממוזג מבוטא תחת בקרה TPR על ידי תיוג .(NPC) הממוקם בסל הגרעיני בצד הגרעיני של קומפלקס הנקבוביות הגרעיניות .רגולטורית טבעית, תוך שמירה על רמות ביטוי פיזיולוגיות ושילוב תקין במבנה הסל הגרעיני
עם מצעים פלואורסצנטיים מצומדים לבנזילגואנין בתאים חיים או קבועים, מה שמאפשר הדמיה ספציפית ויציבה TPR מאפשר תיוג קוולנטי של SNAP תג המסומן מציג התפלגות אופיינית של טבעות נקודתיות במעטפת הגרעין, התואמת למבנים של סל גרעיני ביותר. בתאי U2OS-CRISPR-TPR-SNAP, TPR הקשורים ל-NPC. מערכת זו מתאימה היטב למיקרוסקופיה פלואורסצנטית כמותית, הדמיה ברזולוציה גבוהה, תיוג פולס-צ'ייס ומחקרים דינמיים של הרכבת מקלים על הדמיה ברזולוציה גבוהה של מבנים הקשורים למעטפת הגרעין U2OS סל גרעיני ותחלופתו. המורפולוגיה השטוחה והגרעינים הגדולים של תאי TPR מעורב גם ביצירת .בוויסות הובלה גרעינית, בארגון כרומטין בפריפריה הגרעינית ובארגון גנומי מרחבי mRNA, ממלא תפקידים קריטיים בייצוא מספק מודל פיזיולוגי U2OS-CRISPR-TPR-SNAP .תת-תאים הקשורים להובלה גרעינית ובהדרת הטרוכרומטין מאזורים הקשורים לנקבוביות גרעיניות רלוונטי לניתוח הארכיטקטורה והדינמיקה של הסל הגרעיני, לחקר מנגנוני התעבורה הגרעינית-ציטופלזמית ולחקר האינטראקציות בין הכרומטין הקשור .למעטפת הגרעין בתאי ביטוי אנדוגניים

Tissue	עצם
Disease	אוסטאוסרקומה
Metastatic site	מיקום הגידול הראשוני (עצם)

Applications

ויסות הובלה גרעינית-ציטופלזמית; ארגון הכרומטין בפריפריה הגרעינית; תתי-תאים של הובלה TPR; בתיווך mRNA ביולוגיה של "סלסלת הגרעין"; ייצוא הדרת הטרוכרומטין מאזורים הקשורים לנקבוביות SNAP (Pulse-Chase); גרעינית; ארגון מרחבי של הגנום; מיקרוסקופיה ברזולוציה-על; תיוג בשיטת

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

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.

Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	דמוי אפיתל
Cell type	תאי אפיתל (אוסטאוסרקומה)
Doubling time	כ-24 עד 36 שעות

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

IDENTIFIERS

Citation

U2OS-CRISPR-TPR-SNAP (מספר קטלוגי Cytion 300667)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Depositor	מעבדת אלנברג (EMBL)

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

TPR, SNAP-tag

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

McCoys 5a, w: 3.0 g/L גלוקוז, w: יציב גלוטמין, w: 2.0 mM נתרן פירובט, w: 2.2 g/L NaHCO3 (מספר פריט Cytion 820200a)

Incubation atmosphere	37°C, 5%CO2, אווירה לחה.

Supplements

10% הוסף לתמיסה FBS, 3.0 גרם/ליטר גלוקוז, גלוטמין יציב, 2.0 מ"מ נתרן פירובט, 2.2 גרם/ליטר NaHCO3, 1% NEAA

Dissociation reagent	אקוטאז

Subculturing

T75, ועבור בקבוקי PBS, השתמש ב-3-5 מ"ל T25, ללא סידן ומגנזיום. עבור בקבוקי PBS-הסר את המדיום הישן מהתאים הדבוקים ושטוף אותם ב השאר את .T75 ו-2.5 מ"ל עבור בקבוקי T25 תוך שימוש ב-1-2 מ"ל עבור בקבוקי Accutase-השתמש ב-5-10 מ"ל. לאחר מכן, כסה את התאים לחלוטין ב התאים לדגירה בטמפרטורת החדר למשך 8-10 דקות כדי לנתק אותם. לאחר הדגירה, ערבב בעדינות את התאים עם 10 מ"ל של מדיום כדי להחזיר אותם למשך 3 דקות. השלך את הנוזל העליון, החזר את התאים לתמיסה במדיום טרי והעבר אותם לצלחות חדשות בצפיפות xgלתמיסה, ואז סובב בצנטריפוגה ב-300 שכבר מכילות מדיום טרי.

Split ratio	עד 1 3
Seeding density	עד 3 × 10^4 תאים/סמ"ר 1
Fluid renewal	עד 3 פעמים בשבוע 2

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

ושיטות זיהוי מיקופלסמה מבוססות לומניסצנציה PCR זיהום במיקופלסמה נשלל באמצעות בדיקות מבוססות.
כדי להבטיח שאין זיהום חיידקי, פטרייתי או שמרי, תרבויות התאים עוברות בדיקות ויזואליות יומיות.

Freeze medium	כדי להבטיח 10% DMSO + (FBS כולל) כמדיום לשימור בקירור, אנו משתמשים במדיום גידול מלא הכולל חומרים אוסמו- ,(Cytion 800100 מספר קטלוגי) CM-1 חיוניות נאותה לאחר ההפשרה, או מגנים ומייצבי מטבוליזם משופרים כדי לשפר את ההתאוששות ולהפחית את הלחץ הנגרם מהקפאה.

Storage conditions

לשימור לטווח ארוך, יש להניח את הבקבוקונים בחנקן נוזלי במצב של אדי בטמפרטורה של כ-150 עד 196 מעלות צלזיוס. אחסון בטמפרטורה של 80 מעלות צלזיוס מקובל רק כצעד ביניים קצר לפני העברה לחנקן נוזלי.

Shipping conditions

במהלך -Cשורות תאים שהוקפאו נשלחות בקרח יבש באריזה מאושרת ומבודדת עם כמות מספקת של חומר קירור כדי לשמור על טמפרטורה של כ-78°. ההובלה. עם קבלת המשלוח, יש לבדוק את המכל מיד ולהעביר את הבקבוקונים ללא דיחוי לאחסון מתאים.

DONOR

Donor age	שנים 15
Ethnicity	קווקזי

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

כאשר מתכננים לאחסן קריוביאל בחנקן נוזלי להפשרה עתידית, חובה להקפיד על אמצעי בטיחות מחמירים. יש להקפיד על שימוש בכפפות ובבגדים מגנים מתאימים, וכן על שימוש במסכת פנים או משקפי מגן בעת העברת דגימות קפואות אל מיכל החנקן הנוזלי או ממנו. זאת כדי להפחית את הסיכון לפציעה כתוצאה מפיצוץ אפשרי של הקריוביאל בעת הוצאתו, העלול לגרום להתזת רסיסים חדים.

Warranty

אנו עומדים מאחורי האיכות והכדאיות של המוצרים שלנו, ב-Cytion.
אנו מבטיחים שתאינו יהיו קיימים בתחילת התרבית למשך
60 יום לאחר המשלוח מהמתקנים שלנו.
אנו מבטיחים שכל החומרים תואמים למפרטים המתוארים
בתעודת הניתוח ו/או בדף המוצר.
לפרטים מלאים, אנא עיינו ב
הצהרת האחריות שלנו<a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">

Third-party agreements apply	Yes

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