U2OS-CRISPR-TPR-SNAP

300667

GENERAL INFORMATION

Description

U2OS-CRISPR-TPR-SNAP là dòng tế bào ung thư xương người được chỉnh sửa gen, được phát triển từ tế bào U2OS, trong đó gen TPR (Vùng Khởi Động Di Chuyển) nội sinh đã được sửa đổi bằng công nghệ CRISPR/Cas9 để mã hóa một thẻ SNAP trong khung đọc. TPR là một protein nucleoporin có cấu trúc xoắn ốc lớn, định vị tại giỏ nhân (nuclear basket) ở phía nhân của phức hợp lỗ nhân (NPC). Bằng cách gắn thẻ SNAP tại vị trí nội sinh của TPR, protein liên hợp được biểu hiện dưới sự điều hòa tự nhiên, duy trì mức biểu hiện sinh lý và đảm bảo sự tích hợp đúng cách vào cấu trúc giỏ nhân.
Thẻ SNAP cho phép gắn nhãn cộng hóa trị TPR với các chất nền huỳnh quang liên kết benzylguanine trong tế bào sống hoặc cố định, cho phép quan sát đặc hiệu và ổn định cao. Trong tế bào U2OS-CRISPR-TPR-SNAP, TPR được gắn nhãn hiển thị phân bố dạng vòng chấm đặc trưng trên màng nhân, tương ứng với cấu trúc giỏ nhân liên quan đến NPC. Hệ thống này rất phù hợp cho viễn vọng huỳnh quang định lượng, hình ảnh siêu phân giải, gắn nhãn theo dõi xung và nghiên cứu động học về quá trình lắp ráp và thoái hóa của giỏ nhân. Hình thái phẳng và nhân lớn của tế bào U2OS thuận lợi cho việc hình ảnh hóa cấu trúc liên quan đến màng nhân với độ phân giải cao.
TPR đóng vai trò quan trọng trong xuất khẩu mRNA, điều hòa vận chuyển nhân, tổ chức chromatin tại vùng biên nhân và tổ chức không gian của bộ gen. TPR cũng liên quan đến việc hình thành các tiểu vùng liên quan đến vận chuyển nhân và loại trừ heterochromatin khỏi các vùng liên quan đến lỗ nhân. U2OS-CRISPR-TPR-SNAP cung cấp một mô hình sinh lý học phù hợp để phân tích cấu trúc và động học của giỏ nhân, nghiên cứu các cơ chế vận chuyển nhân-cytoplasm và nghiên cứu tương tác giữa chromatin và màng nhân trong điều kiện biểu hiện nội sinh.

Tissue	Xương
Disease	U xương
Metastatic site	Vị trí khối u nguyên phát (xương)

Applications

Sinh học giỏ nhân; Quá trình xuất khẩu mRNA qua trung gian TPR; Điều hòa vận chuyển giữa nhân và tế bào chất; Cấu trúc chromatin ở vùng ngoại vi nhân; Các tiểu khoang vận chuyển trong nhân; Cấu trúc không gian của bộ gen; Kính hiển vi siêu phân giải; Phương pháp đánh dấu SNAP pulse-chase; Sự loại trừ heterochromatin khỏi các vùng liên quan đến lỗ nhân

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	Tương tự biểu mô
Cell type	Tế bào biểu mô (u xương ác tính)

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

Doubling time	khoảng 24 đến 36 giờ

IDENTIFIERS

Citation

U2OS-CRISPR-TPR-SNAP (Số catalog Cytion 300667)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Depositor	Phòng thí nghiệm Ellenberg (EMBL)

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

TPR, SNAP-tag

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

McCoys 5a, chứa: 3,0 g/L glucose, chứa: glutamine ổn định, chứa: 2,2 mM natri pyruvate, chứa: 2,2 g/L $NaHCO_3$ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820200a)

Incubation atmosphere	37°C, 5%CO_2, môi trường ẩm.

Supplements

Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 10% huyết thanh bò (FBS), 3,0 g/L glucose, glutamine ổn định, 2,0 mM natri pyruvate, 2,2 g/L $NaHCO_3$, 1% NEAA

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.

Split ratio	1 đến 3
Seeding density	1 đến 3 × 10^4 tế bào/cm^2
Fluid renewal	2 đến 3 lần mỗi tuần

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

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.
Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.

Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để cải thiện quá trình phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Storage conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng −150 đến −196 °C. Việc bảo quản ở −80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Shipping conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

DONOR

Donor age	15 năm
Ethnicity	Người da trắng

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Khi lập kế hoạch lưu trữ ống cryovial trong nitơ lỏng để rã đông sau này, việc tuân thủ các biện pháp an toàn nghiêm ngặt là bắt buộc. Găng tay và quần áo bảo hộ phù hợp là điều cần thiết, và việc sử dụng khẩu trang hoặc kính bảo hộ là bắt buộc trong quá trình chuyển mẫu đông lạnh vào hoặc ra khỏi bể nitơ lỏng. Điều này nhằm giảm thiểu nguy cơ chấn thương do nổ ống cryovial khi lấy ra, có thể dẫn đến việc văng ra các mảnh vỡ sắc nhọn.

Warranty

Tại Cytion, chúng tôi cam kết về chất lượng và khả năng sống của các sản phẩm của mình.
Chúng tôi đảm bảo rằng các tế bào của chúng tôi sẽ có khả năng sống tại thời điểm bắt đầu nuôi cấy trong
60 ngày kể từ khi vận chuyển từ cơ sở của chúng tôi.
Chúng tôi cam kết rằng tất cả các vật liệu tuân thủ các thông số kỹ thuật được mô tả trong
Giấy chứng nhận phân tích và/hoặc Tài liệu sản phẩm.
Để biết chi tiết đầy đủ, vui lòng tham khảo
<a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Tuyên bố Bảo hành.

Third-party agreements apply	Yes