U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1

300664

ΓΕΝΙΚΈΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΊΕΣ

Περιγραφή

Το U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 είναι μια γενετικά τροποποιημένη ανθρώπινη κυτταρική σειρά οστεοσαρκώματος που προέρχεται από κύτταρα U2OS, στα οποία το ενδογενές γονίδιο SEH1L (SEH1) έχει τροποποιηθεί χρησιμοποιώντας την τεχνολογία CRISPR/Cas9 για να κωδικοποιήσει μια ετικέτα SNAPf εντός πλαισίου. Το SEH1 είναι ένα συστατικό του συμπλέγματος Y (γνωστού και ως σύμπλεγμα NUP107-160), ενός βασικού δομικού στοιχείου του συμπλέγματος πυρηνικών πόρων (NPC) που συμβάλλει στη συναρμολόγηση και τη σταθερότητα του σκελετού των πόρων. Με την εισαγωγή της αλληλουχίας κωδικοποίησης SNAPf στον ενδογενή τόπο, η σημασμένη πρωτεΐνη SEH1 εκφράζεται υπό φυσιολογικό ρυθμιστικό έλεγχο, διατηρώντας τα φυσιολογικά επίπεδα έκφρασης και ελαχιστοποιώντας τις διαταραχές στη σύνθεση των πυρηνικών πόρων.
Η ετικέτα SNAPf είναι μια τροποποιημένη, ταχείας αντίδρασης παραλλαγή της ετικέτας SNAP που συνδέεται ομοιοπολικά με υποστρώματα συζευγμένα με βενζυλογουανίνη, επιτρέποντας επιλεκτική και σταθερή φθορίζουσα σήμανση σε ζωντανά ή σταθερά κύτταρα. Στα κύτταρα U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1, η πρωτεΐνη σύντηξης εντοπίζεται στο πυρηνικό περίβλημα με ένα χαρακτηριστικό διάσπαρτο μοτίβο NPC. Επειδή η σήμανση πραγματοποιείται σε ενδογενή επίπεδα πρωτεΐνης, αυτό το σύστημα είναι κατάλληλο για ποσοτική φθορίζουσα μικροσκοπία, απεικόνιση υπερ-ανάλυσης και αναλύσεις παρακολούθησης μεμονωμένων σωματιδίων με στόχο την ανάλυση της οργάνωσης και της στοιχειομετρίας των NPC. Η επίπεδη μορφολογία και οι μεγάλοι πυρήνες των κυττάρων U2OS διευκολύνουν περαιτέρω την απεικόνιση υψηλής ανάλυσης των δομών του πυρηνικού περιβλήματος.
Το SEH1 συμμετέχει στη βιογένεση των NPC και έχει επίσης εμπλακεί σε διαδικασίες που σχετίζονται με τον κινητόχορο κατά τη διάρκεια της μίτωσης. Κατά συνέπεια, αυτή η κυτταρική σειρά παρέχει μια ισχυρή πλατφόρμα για τη διερεύνηση της εξαρτώμενης από τον κυτταρικό κύκλο συναρμολόγησης και αποσυναρμολόγησης των NPC, της χωρικής οργάνωσης του συμπλέγματος Y εντός του πλέγματος των πόρων και των πιθανών διπλών ρόλων του SEH1 στο πυρηνικό περίβλημα και στους μιτωτικούς κινητόχορους. Το U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 επιτρέπει τη διεξαγωγή μηχανιστικών μελετών της αρχιτεκτονικής και της δυναμικής των πυρηνικών πόρων υπό φυσιολογικά σχετικές συνθήκες έκφρασης.

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

Εφαρμογές

Βιολογία του συμπλόκου Y/NUP107-160· ρόλος του SEH1 στη συναρμολόγηση του σκελετού του NPC· συστατικά του NPC που συνδέονται με τον κινητόχορο· στοιχειομετρία του NPC· σήμανση SNAP με τη μέθοδο «pulse-chase»· μικροσκοπία υπερ-ανάλυσης· βιογένεση του NPC· αποσυναρμολόγηση και επανασυναρμολόγηση του NPC κατά τη μίτωση

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-SNAPf-SEH1) contains a CRISPR-mediated SNAPf-SEH1 fusion that allows selective labeling of the SEH1 nucleoporin. The modification is stably present. 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-SNAPf-SEH1 (αριθμός καταλόγου Cytion 300664)

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

SEH1, SNAPf-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