U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1

300664

GENERAL INFORMATION

Description

U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 es una línea celular de osteosarcoma humano editada genómicamente, derivada de células U2OS, en la que el gen endógeno SEH1L (SEH1) ha sido modificado mediante la tecnología CRISPR/Cas9 para codificar una etiqueta SNAPf en marco de lectura. SEH1 es un componente del complejo Y (también conocido como complejo NUP107-160), un módulo estructural central del complejo de poros nucleares (NPC) que contribuye al ensamblaje y la estabilidad del andamio de los poros. Al insertar la secuencia codificante de SNAPf en el locus endógeno, la proteína SEH1 marcada se expresa bajo control regulatorio nativo, lo que preserva los niveles de expresión fisiológicos y minimiza las perturbaciones en la composición de los poros nucleares.
La etiqueta SNAPf es una variante modificada y de reacción rápida de la etiqueta SNAP que se une covalentemente a sustratos conjugados con bencilguanina, lo que permite un marcaje fluorescente selectivo y estable en células vivas o fijadas. En las células U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1, la proteína de fusión se localiza en la envoltura nuclear con un patrón punteado característico de la distribución de los poros nucleares (NPC). Dado que el marcaje se produce a niveles de proteína endógena, este sistema es ideal para la microscopía de fluorescencia cuantitativa, la obtención de imágenes de superresolución y los análisis de seguimiento de partículas individuales destinados a desentrañar la organización y la estequiometría de los NPC. La morfología plana y los núcleos grandes de las células U2OS facilitan aún más la visualización de alta resolución de las estructuras de la envoltura nuclear.
SEH1 participa en la biogénesis de los NPC y también se ha relacionado con procesos asociados al cinetocoro durante la mitosis. En consecuencia, esta línea celular ofrece una plataforma sólida para investigar el ensamblaje y desensamblaje de los NPC dependientes del ciclo celular, la organización espacial del complejo Y dentro del andamio de los poros y las posibles funciones duales de SEH1 en la envoltura nuclear y los cinetocoros mitóticos. U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 permite realizar estudios mecanísticos de la arquitectura y la dinámica de los poros nucleares en condiciones de expresión fisiológicamente relevantes.

Tissue	Hueso
Disease	Osteosarcoma
Metastatic site	Localización del tumor primario (hueso)

Applications

Biología del complejo Y/complejo NUP107-160; papel de SEH1 en el ensamblaje del andamio del NPC; componentes del NPC asociados al cinetocoro; estequiometría del NPC; marcaje SNAP por pulso-persecución; microscopía de superresolución; biogénesis del NPC; desmontaje y reensamblaje mitótico del NPC

CLASSIFICATION

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

GMO status details

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.

Biosafety level	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

CHARACTERISTICS

Morphology	De tipo epitelial
Cell type	Células epiteliales (osteosarcoma)
Doubling time	aprox. de 24 a 36 horas

IDENTIFIERS

Citation

U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 (número de catálogo de Cytion 300664)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Depositor	El Laboratorio Ellenberg (EMBL)

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

SEH1, etiqueta SNAPf

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

McCoys 5a, p: 3,0 g/L de glucosa, p: glutamina estable, p: 2,0 mM de piruvato de sodio, p: 2,2 g/L de $NaHCO_3$ (número de artículo de Cytion 820200a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmósfera humidificada.

Supplements

Añade al medio un 10 % de FBS, 3,0 g/L de glucosa, glutamina estable, 2,0 mM de piruvato de sodio, 2,2 g/L de $NaHCO_3$ y un 1 % de NEAA.

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspendarlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfiéralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.

Split ratio	1 a 3
Seeding density	De 1 a 3 × 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	De 2 a 3 veces por semana

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

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.
Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

Freeze medium	Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Storage conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre −150 y −196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a −80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Shipping conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente −78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

DONOR

Donor age	15 años
Ethnicity	caucásico

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Cuando se planea almacenar un criovial en nitrógeno líquido para su descongelación futura, es obligatorio cumplir con estrictas medidas de seguridad. Es esencial contar con guantes y ropa de protección adecuados, y se requiere el uso de una mascarilla o lentes de seguridad durante la transferencia de muestras congeladas hacia o desde el tanque de nitrógeno líquido. Esto tiene como objetivo mitigar el riesgo de lesiones por posibles explosiones de los criotubos al retirarlos, lo que puede provocar la proyección de fragmentos afilados.

Warranty

En Cytion, respaldamos la calidad y la viabilidad de nuestros productos.
Garantizamos que nuestras células serán viables al inicio del cultivo durante
60 días a partir de la fecha de envío desde nuestras instalaciones.
Aseguramos que todos los materiales cumplen con las especificaciones descritas en el
Certificado de Análisis y/o la Ficha del Producto.
Para obtener más detalles, consulte nuestra
Declaración de garantía.

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