U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1

300664

GENERAL INFORMATION

Description

U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 הוא קו תאים של אוסטאוסרקומה אנושית שעבר עריכת גנום, שמקורו בתאי U2OS, בהם הגן האנדוגני SEH1L (SEH1) הידוע גם כמתחם NUP107-160 (Y). SEH1 הוא מרכיב במתחם SNAPf בתוך המסגרת. כדי לקודד תגית CRISPR/Cas9 שונה באמצעות טכנולוגיית בלוקוס האנדוגני, החלבון SNAPf התורם להרכבת שלד הנקבוביות וליציבותן. על ידי החדרת רצף הקוד (NPC) מודול מבני מרכזי במתחם נקבוביות הגרעין המתויג מתבטא תחת בקרה רגולטורית טבעית, תוך שמירה על רמות ביטוי פיזיולוגיות ומזעור הפרעות בהרכב נקבוביות הגרעין SEH1.
הקושרת באופן קוולנטי מצעים מצומדים לבנזילגואנין, ומאפשרת תיוג פלואורסצנטי סלקטיבי ויציב SNAP, הוא גרסה מהונדסת ומהירה של תג SNAPf התג החלבון הממוזג מתמקם במעטפת הגרעין בתבנית נקודתית האופיינית להפצת U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1, בתאים חיים או קבועים. בתאי NPC. מכיוון שהתיוג מתרחש ברמות החלבון האנדוגניות, מערכת זו מתאימה היטב למיקרוסקופיה פלואורסצנטית כמותית, הדמיה ברזולוציה גבוהה וניתוח מעקב מקלים עוד U2OS ואת הסטויכומטריה שלו. המורפולוגיה השטוחה והגרעינים הגדולים של תאי NPC-אחר חלקיקים בודדים שמטרתם לנתח את ארגון ה יותר על הדמיה ברזולוציה גבוהה של מבני מעטפת הגרעין.
ומעורב גם בתהליכים הקשורים לקינטוכור במהלך המיטוזה. בהתאם לכך, קו תאים זה מספק פלטפורמה איתנה לחקר NPC משתתף בביוגנזה של SEH1 בתוך שלד הנקבוביות, והתפקידים הכפולים הפוטנציאליים של Y התלויים במחזור התא, הארגון המרחבי של קומפלקס NPC הרכבה ופירוק של מאפשר מחקרים מכניים של הארכיטקטורה והדינמיקה של נקבוביות גרעיניות U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1. במעטפת הגרעין ובקינטוכורים המיטוטיים בתנאי ביטוי רלוונטיים מבחינה פיזיולוגית.

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

Applications

הקשורים לקינטוכור; הסטויכיומטריה של ה NPC-רכיבי ה; NPC-בהרכבת שלד ה SEH1 תפקידו של NUP107-160; קומפלקס Y/הביולוגיה של קומפלקס NPC; במהלך ה NPC-פירוק והרכבה מחדש של ה NPC-מיקרוסקופיה ברזולוציה-על; ביוגנזה של ה SNAP; סימון באמצעות שיטת "pulse-chase" של המיטוזה

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

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-SNAPf-SEH1 (מספר קטלוגי Cytion 300664)

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

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

SEH1, SNAPf-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 של 2x10⁴ תאים/סמ"ר, ואז סובב בצנטריפוגה ב-300
.שכבר מכילות מדיום טרי

Split ratio	1 עד 3
Seeding density	1 עד 3 × 10⁴ תאים/סמ"ר
Fluid renewal	2 עד 3 פעמים בשבוע

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