U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1

300664

ÁLTALÁNOS INFORMÁCIÓK

Leírás

Az U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 egy genomszerkesztett humán osteosarcoma sejtvonal, amely U2OS sejtekből származik, és amelyben az endogén SEH1L (SEH1) gént CRISPR/Cas9 technológiával módosították, hogy egy in-frame SNAPf tagot kódoljon. Az SEH1 a Y-komplex (más néven NUP107-160 komplex) egyik komponense, amely a nukleáris pórus komplex (NPC) központi szerkezeti modulja, és hozzájárul a pórus vázszerkezetének összeállításához és stabilitásához. A SNAPf kódoló szekvencia beillesztésével az endogén lókuszba a címkézett SEH1 fehérje natív szabályozó kontroll alatt expresszálódik, megőrizve a fiziológiai expressziós szinteket és minimalizálva a nukleáris pórus összetételének zavarait.
A SNAPf tag a SNAP-tag egy módosított, gyorsan reagáló változata, amely kovalens kötéssel kapcsolódik a benzilguanin-konjugált szubsztrátokhoz, lehetővé téve a szelektív és stabil fluoreszcens jelölést élő vagy fixált sejtekben. Az U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 sejtekben a fúziós fehérje az NPC eloszlására jellemző pontszerű mintázatban lokalizálódik a magmembránban. Mivel a jelölés endogén fehérjeszinteken történik, ez a rendszer kiválóan alkalmas kvantitatív fluoreszcens mikroszkópiára, szuperfelbontású képalkotásra és egyrészecske-követési elemzésekre, amelyek célja az NPC szerveződésének és sztöchiometriájának feltárása. Az U2OS sejtek lapos morfológiája és nagy magjai tovább megkönnyítik a magmembrán struktúráinak nagy felbontású vizualizálását.
A SEH1 részt vesz az NPC biogenezisében, és szerepet játszik a mitózis során a kinetokórral kapcsolatos folyamatokban is. Ennek megfelelően ez a sejtvonal robusztus platformot biztosít a sejtciklus-függő NPC összeszerelésének és szétszerelésének, a Y-komplex térbeli szerveződésének a pórusvázon belül, valamint a SEH1 potenciális kettős szerepének a sejtmembránon és a mitotikus kinetokórokon történő vizsgálatához. Az U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 lehetővé teszi a nukleáris pórusok szerkezetének és dinamikájának mechanisztikus vizsgálatát fiziológiailag releváns expressziós körülmények között.

Szövet	Csont
Betegség	Osteosarcoma
Áttétes hely	Az elsődleges daganat helye (csont)

Alkalmazások

Az Y-komplex/NUP107-160 komplex biológiája; az SEH1 szerepe az NPC vázszerkezetének felépítésében; a kinetokórhoz kapcsolódó NPC-komponensek; az NPC sztöchiometriája; SNAP-pulzus-üldözéses jelölés; szuperfelbontású mikroszkópia; az NPC biogenezise; az NPC mitotikus lebontása és újbóli összeállítása

OSZTÁLYOZÁS

Organizmus	Ember
Szex	Nő
Növekedési tulajdonságok	Hűséges
GMO-státusz	GMO-S1

A GMO-státuszra vonatkozó részletek

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.

Biológiai biztonsági szint	1

JELLEMZŐK

Morfológia	Epithelszerű

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

Sejttípus	Hámsejtek (osteosarcoma)
Kettőzési idő	kb. 24–36 óra

AZONOSÍTÓK

Hivatkozás

U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 (Cytion katalógusszám 300664)

NCBI adóazonosító szám	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Betétes	Az Ellenberg Labor (EMBL)

KIFEJEZŐDÉS ÉS FOGÉKONYSÁG

Fehérjeexpresszió

SEH1, SNAPf-tag

KEZELÉS ÉS TENYÉSZTÉS

Táptalaj

McCoys 5a, w: 3,0 g/L glükóz, w: stabil glutamin, w: 2,0 mM nátrium-piruvát, w: 2,2 g/L NaHCO3 (Cytion cikkszám: 820200a)

Inkubációs környezet	37°C, 5%CO2, párásított légkör.

Kiegészítők

A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, 3,0 g/L glükózzal, stabil glutaminnal, 2,0 mM nátrium-piruváttal, 2,2 g/L NaHCO3-mal, 1% NEAA-val

Diszociációs reagens	Accutase

Átültetés

Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Osztási arány	1–3
Ültetési sűrűség	1–3 × 10^4 sejt/cm^2
Folyadékcsere	hetente 2-3 alkalommal

Felolvasztás és tenyésztés

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.

MINŐSÉGELLENŐRZÉS ÉS KRIOKONZERVÁLÁS

Meddőség

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

Fagyasztóközeg	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Tárolási feltételek

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Szállítási feltételek

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

ADOMÁNYOZÓ

Az adományozó életkora	15 év
Etnikai hovatartozás	Kaukázusi

JOGI ÉS BIZTONSÁGI INFORMÁCIÓK

Biztonsági óvintézkedések

Ha egy kriovialitást folyékony nitrogénben tervezünk tárolni a későbbi kiolvasztás céljából, akkor kötelező betartani a szigorú biztonsági intézkedéseket. A megfelelő védőkesztyű és védőruházat elengedhetetlen, és a fagyasztott minták folyékony nitrogéntartályba vagy a folyékony nitrogéntartályból történő átvitele során arcmaszk vagy védőszemüveg használata szükséges. Ez azért van, hogy csökkentsék a kriovialis anyagok eltávolításakor bekövetkező esetleges robbanásból eredő sérülésveszélyt, amely éles szilánkok kilövellését eredményezheti.

Garancia

A Cytionnál kiállunk termékeink minősége és életképessége mellett.
Garantáljuk, hogy sejtjeink a tenyésztés megkezdésekor életképesek lesznek, a létesítményünkből történő kiszállítás után 60 napig.
Biztosítjuk, hogy minden anyag megfelel az analitikai tanúsítványban és/vagy a terméklapon leírt specifikációknak
A teljes részleteket lásd <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Garancia nyilatkozatunkban

Harmadik felekkel kötött megállapodások érvényesek	Yes