U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1

300664

INFORMASI UMUM

Deskripsi

U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 adalah garis sel osteosarcoma manusia yang dimodifikasi genomnya, yang berasal dari sel U2OS, di mana gen SEH1L (SEH1) endogen telah dimodifikasi menggunakan teknologi CRISPR/Cas9 untuk mengkodekan tag SNAPf yang berada dalam bingkai pembacaan. SEH1 merupakan komponen dari kompleks Y (juga dikenal sebagai kompleks NUP107-160), modul struktural inti dari kompleks pori nuklir (NPC) yang berkontribusi pada perakitan dan stabilitas rangkaian pori. Dengan menyisipkan urutan pengkodean SNAPf pada lokus endogen, protein SEH1 yang ditandai diekspresikan di bawah kendali regulasi alami, mempertahankan tingkat ekspresi fisiologis dan meminimalkan gangguan pada komposisi pori nuklir.
Tag SNAPf adalah varian yang dimodifikasi secara rekayasa dari tag SNAP, yang secara kovalen mengikat substrat yang dikonjugasi dengan benzylguanine, memungkinkan penandaan fluoresen selektif dan stabil pada sel hidup atau yang telah difiksasi. Pada sel U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1, protein fusi ini berlokasi pada selubung nukleus dengan pola bercak yang khas untuk distribusi NPC. Karena penandaan terjadi pada tingkat protein endogen, sistem ini sangat cocok untuk mikroskopi fluoresensi kuantitatif, pencitraan super-resolusi, dan analisis pelacakan partikel tunggal yang bertujuan untuk mengurai organisasi dan stoikiometri NPC. Morfologi datar dan nukleus besar sel U2OS juga memudahkan visualisasi resolusi tinggi struktur selubung nukleus.
SEH1 terlibat dalam biogenesis NPC dan juga dikaitkan dengan proses kinetokor selama mitosis. Oleh karena itu, garis sel ini menyediakan platform yang andal untuk menyelidiki perakitan dan pembongkaran NPC yang bergantung pada siklus sel, organisasi spasial kompleks Y di dalam rangkaian pori, serta peran ganda potensial SEH1 di selubung nukleus dan kinetokor mitosis. U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 memfasilitasi studi mekanistik tentang arsitektur dan dinamika pori nukleus dalam kondisi ekspresi yang relevan secara fisiologis.

Tisu	Tulang
Penyakit	Osteosarkoma
Lokasi metastasis	Lokasi tumor primer (tulang)

Aplikasi

Biologi kompleks Y/kompleks NUP107-160; peran SEH1 dalam perakitan kerangka NPC; komponen NPC yang terkait dengan kinetokor; stoikiometri NPC; penandaan SNAP dengan metode pulse-chase; mikroskopi resolusi super; biogenesis NPC; pembongkaran dan perakitan ulang NPC selama mitosis

KLASIFIKASI

Organisme	Manusia
Seks	Perempuan
Sifat-sifat pertumbuhan	Pengikut
Status GMO	GMO-S1

Rincian status GMO

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.

Tingkat keamanan hayati	1

KARAKTERISTIK

Morfologi	Seperti epitel

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

Jenis sel	Sel epitel (osteosarkoma)
Waktu penggandaan	sekitar 24 hingga 36 jam

PENGIDENTIFIKASI

Referensi

U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 (nomor katalog Cytion 300664)

Nomor Identifikasi Pajak NCBI	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Nasabah penyimpanan	Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)

EKSPRESI DAN KERENTANAN

Ekspresi protein

SEH1, tag SNAPf

PENANGANAN DAN BUDIDAYA

Media kultur

McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glukosa, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natrium piruvat, w: 2,2 g/L NaHCO3 (Nomor artikel Cytion 820200a)

Suasana inkubasi	37°C, 5%CO2, atmosfer yang dilembabkan.

Suplemen

Lengkapi media dengan 10% FBS, 3,0 g/L Glukosa, Glutamin stabil, 2,0 mM Natrium piruvat, 2,2 g/L NaHCO3, 1% NEAA

Reagen disosiasi	Accutase

Perbanyakan sel

Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.

Rasio pemisahan	1 sampai 3
Kepadatan penanaman	1 hingga 3 × 10^4 sel/cm^2
Pergantian cairan	2 hingga 3 kali per minggu

Pencairan dan pembiakan

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.

PENGENDALIAN MUTU DAN KRIOPRESERVASI

Kemandulan

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.
Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.

Media pembekuan	Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Kondisi penyimpanan

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Ketentuan pengiriman

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

DONATUR

Usia donor	15 tahun
Etnis	Kaukasia

HUKUM DAN KESELAMATAN

Tindakan pencegahan keselamatan

Ketika berencana menyimpan kriovial dalam nitrogen cair untuk pencairan di masa mendatang, Anda wajib mematuhi langkah-langkah keamanan yang ketat. Sarung tangan dan pakaian pelindung yang tepat sangat penting, dan penggunaan masker wajah atau kacamata pengaman diperlukan selama pemindahan sampel beku ke atau dari tangki nitrogen cair. Hal ini untuk mengurangi risiko cedera akibat potensi ledakan cryovial pada saat pemindahan, yang dapat mengakibatkan proyeksi fragmen tajam.

Garansi

Di Cytion, kami mendukung kualitas dan kelangsungan hidup produk kami.
Kami menjamin bahwa sel kami akan dapat bertahan hidup pada awal kultur selama 60 hari setelah pengiriman dari fasilitas kami.
Kami menjamin bahwa semua bahan sesuai dengan spesifikasi yang dijelaskan dalam Sertifikat Analisis dan / atau Lembar Produk
Untuk detail lengkap, silakan merujuk ke <a href=""/Siapa-kami-Garansi/Garansi/"" hreflang=""x-default"">Pernyataan Jaminan kami

Berlaku ketentuan perjanjian pihak ketiga	Yes