# U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1

300664

## INFORMACJE OGÓLNE

### Opis

U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 to zmodyfikowana genetycznie linia komórek ludzkiego osteosarcoma pochodząca z komórek U2OS, w której endogenny gen SEH1L (SEH1) został zmodyfikowany przy użyciu technologii CRISPR/Cas9 w celu zakodowania znacznika SNAPf w ramce. SEH1 jest składnikiem kompleksu Y (znanego również jako kompleks NUP107-160), podstawowego modułu strukturalnego kompleksu porów jądrowych (NPC), który przyczynia się do montażu i stabilności szkieletu porów. Poprzez wstawienie sekwencji kodującej SNAPf w endogenicznym locus, oznaczone białko SEH1 jest wyrażane pod natywną kontrolą regulacyjną, zachowując fizjologiczne poziomy ekspresji i minimalizując zaburzenia w składzie porów jądrowych.
Tag SNAPf jest zmodyfikowaną, szybko reagującą odmianą tagu SNAP, która kowalencyjnie wiąże substraty sprzężone z benzyloguaniną, umożliwiając selektywne i stabilne znakowanie fluorescencyjne w żywych lub utrwalonych komórkach. W komórkach U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 białko fuzyjne lokalizuje się w otoczce jądrowej w postaci charakterystycznego dla rozmieszczenia NPC wzoru punktowego. Ponieważ znakowanie odbywa się na poziomie białek endogennych, system ten dobrze nadaje się do ilościowej mikroskopii fluorescencyjnej, obrazowania w superrozdzielczości oraz analiz śledzenia pojedynczych cząstek, mających na celu rozłożenie organizacji i stechiometrii NPC. Płaska morfologia i duże jądra komórek U2OS dodatkowo ułatwiają wizualizację struktur otoczki jądrowej w wysokiej rozdzielczości.
SEH1 uczestniczy w biogenezie NPC, a także bierze udział w procesach związanych z kinetochorem podczas mitozy. W związku z tym ta linia komórkowa stanowi solidną platformę do badania zależnego od cyklu komórkowego montażu i demontażu NPC, organizacji przestrzennej kompleksu Y w szkielecie porów oraz potencjalnej podwójnej roli SEH1 w otoczce jądra komórkowego i kinetochorach mitotycznych. U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 umożliwia badania mechanistyczne architektury i dynamiki porów jądrowych w warunkach ekspresji istotnych z fizjologicznego punktu widzenia.

| | |
|---|---|
| **Chusteczka** | Kość |
| **Choroba** | Mięsak kościopochodny |
| **Miejsce przerzutów** | Miejsce występowania guza pierwotnego (kość) |

### Zastosowania

Biologia kompleksu Y/kompleksu NUP107-160; rola białka SEH1 w tworzeniu szkieletu NPC; składniki NPC związane z kinetochorem; stechiometria NPC; znakowanie metodą „pulse-chase” z użyciem SNAP; mikroskopia superrozdzielcza; biogeneza NPC; rozpad i ponowne tworzenie NPC podczas mitozy

## KLASYFIKACJA

| | |
|---|---|
| **Organizm** | Człowiek |
| **Seks** | Kobieta |
| **Właściwości związane ze wzrostem** | Zwolennik |
| **Status GMO** | GMO-S1 |

### Szczegółowe informacje dotyczące statusu 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.

| | |
|---|---|
| **Poziom bezpieczeństwa biologicznego** | 1 |

## CECHY CHARAKTERYSTYCZNE

| | |
|---|---|
| **Morfologia** | Podobny do nabłonka |

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

| | |
|---|---|
| **Typ komórki** | Komórki nabłonkowe (osteosarcoma) |
| **Czas podwojenia** | ok. 24–36 godzin |

## IDENTYFIKATORY

**Źródło**

U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 (numer katalogowy Cytion 300664)

| | |
|---|---|
| **Numer identyfikacji podatkowej NCBI** | 9606 |
| **Cellosaurus** | Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042) |
| **Wkładca** | Laboratorium Ellenberg (EMBL) |

## EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

**Ekspresja białek**

SEH1, znacznik SNAPf

## POSTĘPOWANIE I HODOWLA

**Pożywka hodowlana**

McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukozy, w: stabilna glutamina, w: 2,0 mM pirogronianu sodu, w: 2,2 g/l NaHCO3 (numer artykułu Cytion 820200a)

| | |
|---|---|
| **Atmosfera inkubacyjna** | 37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera. |

**Suplementy**

Uzupełnić pożywkę o 10% FBS, 3,0 g/l glukozy, stabilną glutaminę, 2,0 mM pirogronianu sodu, 2,2 g/l NaHCO3, 1% NEAA

| | |
|---|---|
| **Odczynnik dysocjacyjny** | Accutase |

**Hodowla komórek w subkulturze**

Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

| | |
|---|---|
| **Współczynnik podziału** | od 1 do 3 |
| **Gęstość wysiewu** | od 1 do 3 × $10^4$ komórek/$cm^2$ |
| **Odnawianie płynów** | 2 do 3 razy w tygodniu |

**Rozmrażanie i hodowla**

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.

## KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

### Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.
Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

| | |
|---|---|
| **Pożywka do zamrażania** | Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją. |

### Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C.
Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

### Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## DARCZYŃCA

| | |
|---|---|
| **Wiek dawcy** | 15 lat |
| **Pochodzenie etniczne** | Kaukaski |

## KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

### Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

### Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

| | |
|---|---|
| **Obowiązują umowy z podmiotami zewnętrznymi** | Yes |