# U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1

300664

## INFORMAÇÕES GERAIS

### Descrição

U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 é uma linha celular de osteossarcoma humano editada geneticamente, derivada de células U2OS, na qual o gene SEH1L (SEH1) endógeno foi modificado usando a tecnologia CRISPR/Cas9 para codificar uma etiqueta SNAPf em quadro. O SEH1 é um componente do complexo Y (também conhecido como complexo NUP107-160), um módulo estrutural central do complexo de poros nucleares (NPC) que contribui para a montagem e estabilidade da estrutura dos poros. Ao inserir a sequência de codificação SNAPf no locus endógeno, a proteína SEH1 marcada é expressa sob controlo regulatório nativo, preservando os níveis de expressão fisiológica e minimizando as perturbações na composição dos poros nucleares.
A etiqueta SNAPf é uma variante projetada e de reação rápida da etiqueta SNAP que se liga covalentemente a substratos conjugados com bencilguanina, permitindo a marcação fluorescente seletiva e estável em células vivas ou fixas. Nas células U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1, a proteína de fusão localiza-se no envelope nuclear num padrão pontilhado característico da distribuição do NPC. Como a marcação ocorre em níveis de proteína endógena, este sistema é adequado para microscopia de fluorescência quantitativa, imagens de super-resolução e análises de rastreamento de partículas únicas com o objetivo de dissecar a organização e a estequiometria do NPC. A morfologia plana e os núcleos grandes das células U2OS facilitam ainda mais a visualização em alta resolução das estruturas do envelope nuclear.
A SEH1 participa na biogênese do NPC e também tem sido implicada em processos associados ao cinetocoro durante a mitose. Assim, esta linha celular fornece uma plataforma robusta para investigar a montagem e desmontagem do NPC dependente do ciclo celular, a organização espacial do complexo Y dentro da estrutura do poro e os potenciais papéis duplos da SEH1 no envelope nuclear e nos cinetocoros mitóticos. O U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 permite estudos mecanísticos da arquitetura e dinâmica dos poros nucleares em condições de expressão fisiologicamente relevantes.

| | |
|---|---|
| **Tecido** | Osso |
| **Doença** | Osteossarcoma |
| **Local da metástase** | Localização do tumor primário (osso) |

### Aplicações

Biologia do complexo Y/complexo NUP107-160; papel do SEH1 na montagem da estrutura do NPC; componentes do NPC associados ao cinetocoro; estequiometria do NPC; marcação SNAP por pulso-perseguição; microscopia de super-resolução; biogénese do NPC; desmontagem e remontagem do NPC durante a mitose

## CLASSIFICAÇÃO

| | |
|---|---|
| **Organismo** | Humano |
| **Sexo** | Feminino |
| **Propriedades de crescimento** | Aderente |
| **Estatuto em matéria de OGM** | GMO-S1 |

### Detalhes sobre o estatuto dos OGM

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.

| | |
|---|---|
| **Nível de biossegurança** | 1 |

## CARACTERÍSTICAS

| | |
|---|---|
| **Morfologia** | De tipo epitelial |

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

| | |
|---|---|
| **Tipo de célula** | Células epiteliais (osteossarcoma) |
| **Tempo de duplicação** | aprox. 24 a 36 horas |

## IDENTIFICADORES

**Referência**

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

| | |
|---|---|
| **Número de identificação fiscal do NCBI** | 9606 |
| **Cellosaurus** | Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042) |
| **Depositante** | O Laboratório Ellenberg (EMBL) |

## EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

**Expressão proteica**

SEH1, SNAPf-tag

## MANUSEAMENTO E CULTURA

**Meio de cultura**

McCoys 5a, com: 3,0 g/L de glucose, com: glutamina estável, com: 2,0 mM de piruvato de sódio, com: 2,2 g/L de NaHCO3 (número de artigo Cytion 820200a)

| | |
|---|---|
| **Atmosfera de incubação** | 37°C, 5%CO2, atmosfera humidificada. |

**Suplementos**

Suplementar o meio com 10% de FBS, 3,0 g/L de glucose, glutamina estável, 2,0 mM de piruvato de sódio, 2,2 g/L de NaHCO3, 1% de NEAA

| | |
|---|---|
| **Reagente de dissociação** | Accutase |

**Subcultura**

Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

| | |
|---|---|
| **Rácio de divisão** | 1 a 3 |
| **Densidade de sementeira** | 1 a 3 × $10^4$ células/$cm^2$ |
| **Renovação de fluidos** | 2 a 3 vezes por semana |

### Descongelamento e cultura

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.

## CONTROLO DE QUALIDADE E CRIOPRESERVAÇÃO

### Esterilidade

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.
Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

| | |
|---|---|
| **Meio de congelação** | Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio. |

### Condições de armazenamento

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

### Condições de envio

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## DOADOR

| | |
|---|---|
| **Idade do dador** | 15 anos |
| **Etnia** | Caucasiano |

## ASPECTOS LEGAIS E DE SEGURANÇA

### Precauções de segurança

Quando se planeia armazenar um criovial em nitrogénio líquido para descongelação futura, é obrigatório aderir a medidas de segurança rigorosas. Luvas e vestuário de proteção adequados são essenciais, e a utilização de uma máscara facial ou óculos de segurança é necessária durante a transferência de amostras congeladas para ou do tanque de nitrogénio líquido. Isto destina-se a mitigar o risco de ferimentos provocados por potenciais explosões de crioviais após a remoção, que podem resultar na projeção de fragmentos afiados.

### Garantia

Na Cytion, nós garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células serão viáveis no início da cultura por 60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no Certificado de Análise e/ou Folha de Produto
Para mais informações, consulte a nossa <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Declaração de Garantia

| | |
|---|---|
| **Aplicam-se os acordos com terceiros** | Yes |