U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1

300664

VŠEOBECNÉ INFORMÁCIE

Popis

U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 je génovo upravená ľudská osteosarkómová bunka odvodená z buniek U2OS, v ktorej bol endogénny gén SEH1L (SEH1) modifikovaný pomocou technológie CRISPR/Cas9 tak, aby kódoval in-frame SNAPf tag. SEH1 je súčasťou komplexu Y (známeho aj ako komplex NUP107-160), základného štrukturálneho modulu komplexu jadrových pórov (NPC), ktorý prispieva k zostaveniu a stabilite pórového lešenia. Vložením kódujúcej sekvencie SNAPf do endogénneho lokusu sa označený proteín SEH1 exprimuje pod pôvodnou regulačnou kontrolou, čím sa zachovávajú fyziologické hladiny expresie a minimalizujú sa narušenia zloženia jadrových pórov. Značka SNAPf je umelo vytvorená, rýchlo reagujúca varianta značky SNAP, ktorá kovalentne viaže substráty konjugované s benzylguanínom, čo umožňuje selektívne a stabilné fluorescenčné značenie v živých alebo fixovaných bunkách. V bunkách U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 sa fúzny proteín lokalizuje do jadrovej membrány v bodkovitom vzore charakteristickom pre distribúciu NPC. Keďže značenie prebieha na úrovni endogénnych proteínov, tento systém je vhodný na kvantitatívnu fluorescenčnú mikroskopiu, zobrazovanie s vysokým rozlíšením a analýzy sledovania jednotlivých častíc zamerané na rozbor organizácie a stechiometrie NPC. Plochá morfológia a veľké jadrá buniek U2OS ďalej uľahčujú vizualizáciu štruktúr jadrovej membrány s vysokým rozlíšením.
SEH1 sa podieľa na biogenéze NPC a je tiež zapojený do procesov spojených s kinetochórom počas mitózy. Táto bunková línia preto poskytuje robustnú platformu na skúmanie zostavovania a rozkladania NPC závislého od bunkového cyklu, priestorovej organizácie Y-komplexu v rámci pórovitej kostry a potenciálnej dvojitej úlohy SEH1 v jadrovej membráne a mitotických kinetochóroch. U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 umožňuje mechanistické štúdie architektúry a dynamiky jadrových pórov za fyziologicky relevantných podmienok expresie.

Tkanivo	Kosti
Choroba	Osteosarkóm
Miesto metastáz	Miesto primárneho nádoru (kosť)

Aplikácie

Biológia komplexu Y/komplexu NUP107-160; úloha proteínu SEH1 pri zostavovaní kostry NPC; zložky NPC asociované s kinetochórom; stechiometria NPC; značenie metódou SNAP pulse-chase; mikroskopia so superrozlíšením; biogenéza NPC; mitotická dezintegrácia a opätovná integrácia NPC

KLASIFIKÁCIA

Organizmus	Človek
Sex	Žena
Rastové vlastnosti	Prívrženec
Stav GMO	GMO-S1

Podrobnosti o štatúte 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.

Úroveň biologickej bezpečnosti	1

CHARAKTERISTIKY

Morfológia	Epitelu podobné
Typ bunky	Epitelové bunky (osteosarkóm)

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

Doba zdvojnásobenia	približne 24 až 36 hodín

IDENTIFIKÁTORY

Citácia

U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 (katalógové číslo Cytion 300664)

Daňové identifikačné číslo NCBI	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Vkladateľ	Ellenbergova laboratória (EMBL)

PREJAV A NÁCHYLNOSŤ

Expresia proteínov

SEH1, značka SNAPf

MANIPULÁCIA A KULTIVÁCIA

Kultivačné médium

McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukóza, w: stabilný glutamín, w: 2,0 mM pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO3 (číslo článku Cytion 820200a)

Inkubačná atmosféra	37 °C, 5 %CO2, zvlhčená atmosféra.

Doplnky stravy

Doplňte médium o 10 % FBS, 3,0 g/l glukózy, stabilný glutamín, 2,0 mM pyruvát sodný, 2,2 g/l NaHCO3, 1 % NEAA

Disociačné činidlo	Accutase

Rozmnožovanie kultúr

Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstreďujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Pomer rozdelenia	1 až 3
Hustota výsevu	1 až 3 × 10^4 buniek/cm^2
Obnova kvapaliny	2 až 3-krát týždenne

Rozmrazovanie a kultivácia

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 KVALITY A KRYOKONZERVÁCIA

Sterilita

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Mrazové médium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Podmienky skladovania

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Dopravné podmienky

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

DARCA

Vek darcu	15 rokov
Etnická príslušnosť	Kaukazský

PRÁVNE INFORMÁCIE A BEZPEČNOSŤ

Bezpečnostné opatrenia

Pri plánovaní uskladnenia kryovírusu v kvapalnom dusíku na budúce rozmrazenie je potrebné dodržiavať prísne bezpečnostné opatrenia. Vhodné ochranné rukavice a odev sú nevyhnutné a počas prenosu zmrazených vzoriek do nádrže s tekutým dusíkom alebo z nej sa vyžaduje používanie tvárovej masky alebo ochranných okuliarov. Je to z dôvodu zníženia rizika poranenia v dôsledku možnej explózie kryovírusu pri vyberaní, ktorá môže mať za následok vymrštenie ostrých úlomkov.

Záruka

V spoločnosti Cytion si stojíme za kvalitou a životaschopnosťou našich produktov.
Garantujeme, že naše bunky budú životaschopné na začiatku kultivácie počas 60 dní po odoslaní z našich zariadení.
Zaručujeme, že všetky materiály zodpovedajú špecifikáciám opísaným v certifikáte analýzy a/alebo v produktovom liste
Úplné informácie nájdete v našom <a href=""/Kto sme/záruka/"" hreflang=""x-default"">Vyhlásení o záruke

Platia zmluvy s tretími stranami	Yes