U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1

300664

GENEL BILGILER

Açıklama

U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1, endojen SEH1L (SEH1) geninin CRISPR/Cas9 teknolojisi kullanılarak bir çerçeve içi SNAPf etiketini kodlamak üzere modifiye edildiği U2OS hücrelerinden türetilmiş, genomu düzenlenmiş bir insan osteosarkom hücre hattıdır. SEH1, gözenek iskeletinin montajına ve stabilitesine katkıda bulunan nükleer gözenek kompleksinin (NPC) temel yapısal modülü olan Y-kompleksinin (NUP107-160 kompleksi olarak da bilinir) bir bileşenidir. SNAPf kodlama dizisini endojen lokusa ekleyerek, etiketli SEH1 proteini doğal düzenleyici kontrol altında eksprese edilir, fizyolojik ekspresyon seviyeleri korunur ve nükleer gözenek bileşimindeki bozulmalar en aza indirilir.
SNAPf etiketi, benzylguanyin konjuge substratlara kovalent olarak bağlanan, canlı veya sabit hücrelerde seçici ve stabil floresan etiketleme sağlayan, mühendislik ürünü, hızlı reaksiyon gösteren bir SNAP etiketi varyantıdır. U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 hücrelerinde, füzyon proteini NPC dağılımının karakteristik noktalı deseninde nükleer zarfta lokalize olur. Etiketleme endojen protein seviyelerinde gerçekleştiğinden, bu sistem NPC organizasyonunu ve stokiyometrisini incelemek amacıyla yapılan kantitatif floresan mikroskopi, süper çözünürlüklü görüntüleme ve tek parçacık izleme analizleri için çok uygundur. U2OS hücrelerinin düz morfolojisi ve büyük çekirdekleri, nükleer zarf yapılarının yüksek çözünürlüklü görselleştirilmesini daha da kolaylaştırır.
SEH1, NPC biyogenezine katılır ve mitoz sırasında kinetokor ile ilişkili süreçlerde de rol oynar. Buna göre, bu hücre hattı, hücre döngüsüne bağlı NPC montajı ve demontajı, gözenek iskeleti içindeki Y kompleksinin uzamsal organizasyonu ve SEH1'in nükleer zarf ve mitotik kinetokorlarda potansiyel ikili rollerini araştırmak için sağlam bir platform sağlar. U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1, fizyolojik olarak ilgili ekspresyon koşulları altında nükleer gözenek mimarisi ve dinamiklerinin mekanistik çalışmalarını mümkün kılar.

Doku	Kemik
Hastalık	Osteosarkom
Metastaz yeri	Birincil tümör yeri (kemik)

Uygulamalar

Y-kompleksi/NUP107-160 kompleksinin biyolojisi; NPC iskeletinin oluşumunda SEH1'in rolü; kinetokorla ilişkili NPC bileşenleri; NPC stokiyometrisi; SNAP puls-chase etiketleme; süper çözünürlüklü mikroskopi; NPC biyogenezi; mitotik NPC'nin sökülmesi ve yeniden birleşmesi

SINIFLANDIRMA

Canlı	İnsan
Cinsiyet	Kadın
Büyüme özellikleri	Bağlı
GDO durumu	GMO-S1

GDO durumuna ilişkin ayrıntılar

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.

Biyogüvenlik seviyesi	1

ÖZELLIKLER

Morfoloji	Epitel benzeri
Hücre türü	Epitel hücreleri (osteosarkom)

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

İki katına çıkma süresi	yaklaşık 24 ila 36 saat

TANIMLAYICILAR

Kaynak gösterimi

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

NCBI Vergi Kimlik Numarası	9606
Cellosaurus	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Mevduat sahibi	Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)

İFADE VE DUYARLILIK

Protein ekspresyonu

SEH1, SNAPf-tag

İŞLEME VE YETIŞTIRME

Besiyeri

McCoys 5a, w: 3.0 g/L Glukoz, w: stabil Glutamin, w: 2.0 mM Sodyum piruvat, w: 2.2 g/L NaHCO3 (Cytion makale numarası 820200a)

Kuluçka ortamı	37°C, %5CO2, nemlendirilmiş atmosfer.

Takviyeler

Ortamı %10 FBS, 3,0 g/L Glukoz, stabil Glutamin, 2,0 mM Sodyum piruvat, 2,2 g/L NaHCO3, %1 NEAA ile takviye edin

Ayrıştırma reaktifi	Accutase

Alt kültür oluşturma

Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

Bölünme oranı	1'den 3'e kadar
Ekim yoğunluğu	1 ila 3 × 10^4 hücre/cm^2
Sıvı değişimi	haftada 2 ila 3 kez

Çözme ve kültürleme

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.

KALITE KONTROL VE KRIYOPREZERVASYON

Kısırlık

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır. Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

Dondurma ortamı	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Saklama koşulları

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Nakliye koşulları

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

BAĞIŞÇI

Bağışçının yaşı	15 yıl
Etnik köken	Kafkas

YASAL VE GÜVENLIK

Güvenlik önlemleri

İleride çözdürmek üzere sıvı nitrojen içinde bir kriyoviyal saklamayı planlarken, sıkı güvenlik önlemlerine uymak zorunludur. Uygun koruyucu eldivenler ve giysiler şarttır ve dondurulmuş numunelerin sıvı nitrojen tankına veya tanktan transferi sırasında yüz maskesi veya koruyucu gözlük kullanılması gerekir. Bu, çıkarma sırasında keskin parçaların fırlamasına neden olabilecek potansiyel kriyoviyal patlamalardan kaynaklanan yaralanma riskini azaltmak içindir.

Garanti

Cytion olarak ürünlerimizin kalitesinin ve canlılığının arkasındayız.
Hücrelerimizin, tesislerimizden sevkiyattan sonra 60 gün boyunca kültürün başlangıcında canlı olacağını garanti ediyoruz.
Tüm malzemelerin Analiz Sertifikası ve/veya Ürün Sayfasında açıklanan özelliklere uygun olduğunu garanti ediyoruz
Tüm ayrıntılar için lütfen <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garanti Beyanımıza bakın

Üçüncü taraf sözleşmeleri geçerlidir	Yes