U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1

300664

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

Опис

U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 — це генетично модифікована лінія клітин остеосаркоми людини, отримана з клітин U2OS, в яких ендогенний ген SEH1L (SEH1) був модифікований за допомогою технології CRISPR/Cas9 для кодування вбудованого тегу SNAPf. SEH1 є компонентом Y-комплексу (також відомого як комплекс NUP107-160), основного структурного модуля ядерного пористого комплексу (NPC), який сприяє збірці та стабільності пористої структури. Шляхом вставки кодуючої послідовності SNAPf в ендогенний локус, мічений білок SEH1 експресується під нативним регуляторним контролем, зберігаючи фізіологічні рівні експресії та мінімізуючи порушення складу ядерних пор.
Мітка SNAPf — це інженерний, швидкореагуючий варіант мітки SNAP, який ковалентно зв'язує субстрати, кон'юговані з бензилгуаніном, що дозволяє здійснювати селективне та стабільне флуоресцентне маркування в живих або фіксованих клітинах. У клітинах U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 фузійний білок локалізується в ядерній оболонці у вигляді крапчастих плям, характерних для розподілу NPC. Оскільки мічення відбувається на рівні ендогенних білків, ця система добре підходить для кількісної флуоресцентної мікроскопії, надвисокої роздільної здатності зображення та аналізу відстеження окремих частинок, спрямованих на розчленування організації та стехіометрії NPC. Плоска морфологія та великі ядра клітин U2OS ще більше полегшують візуалізацію структур ядерної оболонки з високою роздільною здатністю.
SEH1 бере участь у біогенезі NPC, а також бере участь у процесах, пов'язаних з кінетохорами під час мітозу. Відповідно, ця клітинна лінія забезпечує надійну платформу для дослідження залежного від клітинного циклу складання та розкладання NPC, просторової організації Y-комплексу в пористій структурі та потенційної подвійної ролі SEH1 у ядерній оболонці та мітотичних кінетохорах. U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 дозволяє проводити механістичні дослідження архітектури та динаміки ядерних пор у фізіологічно релевантних умовах експресії.

Тканина	Кость
Хвороба	Остеосаркома
Місце метастазування	Локалізація первинної пухлини (кістка)

Застосування

Біологія комплексу Y/комплексу NUP107-160; роль SEH1 у формуванні каркаса NPC; компоненти NPC, пов’язані з кінетохорами; стехіометрія NPC; мічення методом «пульс-чейз» за допомогою SNAP; мікроскопія надвисокої роздільної здатності; біогенез NPC; розпад і повторне формування NPC під час мітозу

КЛАСИФІКАЦІЯ

Організм	Людина
Секс	Жінка
Характеристики росту	Прихильник
Статус ГМО	GMO-S1

Детальна інформація щодо статусу ГМО

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.

Рівень біобезпеки	1

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

ХАРАКТЕРИСТИКИ

Морфологія	Епітеліальноподібні
Тип клітини	Епітеліальні клітини (остеосаркома)
Час подвоєння	приблизно від 24 до 36 годин

ІДЕНТИФІКАТОРИ

Посилання

U2OS-CRISPR-SNAPf-SEH1 (номер за каталогом Cytion 300664)

Ідентифікаційний номер платника податків NCBI	9606
Целозавр	Not assigned (CRISPR-modified U2OS derivative; parental U2OS CVCL_0042)
Вкладник	Лабораторія Елленберга (EMBL)

ЕКСПРЕСІЯ ТА СПРИЙНЯТЛИВІСТЬ

Експресія білків

SEH1, SNAPf-тег

ОБРОБКА ТА ВИРОЩУВАННЯ

Живильне середовище

McCoys 5a, w: 3,0 г/л Глюкоза, w: стабільна Глютамін, w: 2,0 мМ Піруват натрію, w: 2,2 г/л NaHCO3 (Cytion article number 820200a)

Атмосфера інкубації	37°C, 5% CO2, волога атмосфера.

Добавки

Додайте до середовища 10% FBS, 3,0 г/л глюкози, стабільний глютамін, 2,0 мМ пірувату натрію, 2,2 г/л NaHCO3, 1% NEAA

Реагент для дисоціації	Аккутаза

Пересадка в нове середовище

Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Коефіцієнт розподілу	від 1 до 3
Щільність висіву	від 1 до 3 × 10^4 клітин/$см^2$
Оновлення рідини	2-3 рази на тиждень

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

Розморожування та культивування

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.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ТА КРІОКОНСЕРВАЦІЯ

Стерильність

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

Середовище для заморожування	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Умови зберігання

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Умови доставки

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

ДОНОР

Вік донора	15 років
Етнічна приналежність	Кавказець

ПРАВОВІ ПИТАННЯ ТА БЕЗПЕКА

Заходи безпеки

Плануючи зберігати кріовіал у рідкому азоті для подальшого розморожування, обов'язково слід дотримуватися суворих заходів безпеки. Під час перенесення заморожених зразків до резервуара з рідким азотом або з нього необхідно використовувати захисні рукавички та одяг, а також маску або захисні окуляри. Це необхідно для того, щоб зменшити ризик травмування від потенційних кріогенних вибухів при вилученні, які можуть призвести до розльоту гострих осколків.

Гарантія

У Cytion ми відповідаємо за якість та життєздатність нашої продукції.
Ми гарантуємо, що наші клітини будуть життєздатними на початку культивування протягом 60 днів після відвантаження з нашого заводу.
Ми запевняємо, що всі матеріали відповідають специфікаціям, описаним у сертифікаті аналізу та/або паспорті продукту
Для отримання більш детальної інформації, будь ласка, зверніться до нашого Заяви про гарантію

Діють угоди з третіми сторонами	Yes